新余市 DNA 数据库建设应用现状与构想

罗小根[1]，程　彬[1]，杨　可[2]，胡瑞强[3]，高登星[1]
（1. 江西省新余市公安局刑警支队，338000；2. 江西省新余市渝水公安分局，338000；
3. 江西省新余市袁河公安分局，338001）

1　新余市 DNA 数据库数据库建设情况

新余市位于江西省的西部，下辖 1 县 1 区，总人口 113. 8873 万人，属江西省最小的地级市。我市人口基数少、实验室人员、设备均较落后，但各级领导的关心支持和技术人员的拼搏努力，使得该项工作每年都取得较好的成绩。

根据 2009 年江西省公安厅下发了《2009—2011 年江西省公安厅刑侦工作发展规范》、《江西省公安机关 2009—2013 年 DNA 数据库建设实施方案》等文件，在省公安厅的指导下，市公安局对 DNA 技术人员、实验室建设及数据库建设作出了具体要求。2009 年 6 月 DNA 实验室正式投入使用，2011 年又增加二名 DNA 技术人员，并购置了一些检验、纯化等仪器，加大数据库建设，提高现场生物物证检验能力，采用边建设边应用的原则，充分发挥 DNA 技术和数据库在破案中的重要作用。为了提高现场勘查人员发现、提取生物物证的意识，鼓励基层派出所、刑侦大队和 DNA 实验室检验人员的工作积极性，市公安局党委制订了奖励方案，推动了 DNA 技术和数据库应用健康发展。2015 年 5 月，市公安局党委研究通过 DNA 耗材解决方案，按照各分局现场生物物证送检量及违法犯罪人员建库血样量，分别从政府转付经费中扣除部分资金作为 DNA 实验室专项资金，充分保障 DNA 检验工作的需要。

2　DNA 技术和数据库发挥作用情况

截至 2015 年年底，我市 DNA 数据库共录入违法犯罪人员数据 44087 条，占我市人口 3. 871%，未知名尸体信息 72 条，失踪人员亲属信息 249 条，民政部分收养救助流浪人员 65 人。

2. 1　直接破案

2009 年 6 月建立 DNA 实验室至今，共直接破获各类案件 700 余起，串并 200 余串 450 余起案件，为辖区内命案提供诉讼证据起着关键性作用。例如，直接破获“2004. 5. 11”南昌青山湖黄兵杀害卖淫女案、“2011. 10. 30”杨建华抢劫金矿案、“2013. 10”陈秋华系列拦路抢劫强奸案、“2014. 8. 31”高飞、杨红被抢劫强奸案、“2014. 10. 6”陈菊平抢劫强奸杀人案、“2015. 5. 2”李之兴盗窃保险柜、强奸案等重大案件。

2. 2　认定尸源

认真完成辖区内尸源认定工作。例如，2014 年 4 月 29 日吴某报案称其儿子黄诚于 2013 年 8 月 14 日因与家人吵架后离家出走，至今未归。后采集吴某夫妇血样检验并录入 DNA 数据库，比中 2013 年 8 月 14 日通州办袁河北岸无名高度腐败男性尸体。2014 年 12 月 19 日分宜送失踪人员亲属邓某夫妇血样，要求 DNA 检验并比对，经 DNA 数据库比中 2012 年 9 月 7 日孔目江体育馆北侧湿地公园内无名女性尸体。

2. 3　打击侵财性犯罪

DNA 实验室综合运用多种检验方法，致力于解决诸如入室盗窃、撬砸汽车玻璃、盗窃保险柜、

盗窃牲畜等侵财性案件的现场证据问题，通过对现场各种类型的生物物证检验、比对、串并，为案件侦破和深挖犯罪提供了强有力的技术支撑。比如：“2012. 5. 17”新余市市政府等机关系列砸车盗窃案、2013 年袁知系列盗窃店面案、“2015. 4. 18”胡检保跨省系列盗窃案、“2015. 11. 6”钟有文、钟星星、彭凯凯系列盗窃案、“2015. 12. 29”彭小建系列盗窃耕牛案、“2016. 1. 20”黄小回系列盗窃案、“2016. 5. 9”黄燕平盗窃广本汽车案等案件。

3　科学合理开展 Y-STR 数据库建设

Y-STR 数据库的建设有别于常染色体 DNA 数据库的建设，在开展工作之前要进行周密的准备和计划。7 月 1 日，我市 DNA 实验室民警根据辖区内村落、姓氏等情况进行摸排了解，制订 Y-STR 数据库建设方案，并对实验室人员、派出所负责人、户籍民警、各分局法医等相关人员进行了采集血样方法等培训。全局相关单位各司其职，密切配合，形成联动机制。根据 Y-STR 本身具有地域性分布特点，相对封闭、人员流动小、民风淳朴的山区和偏远村落以及高危犯罪人群在案件的排查中更具有意义，对仙女湖分局九龙山派出所、分宜县杨桥派出所进行率先试点，之后从工作中发现问题，解决问题，以点代面，逐步将 Y 数据库存建设起来。

4　完善 DNA 技术应用和数据库建设的构想

4. 1　提高现场生物物证发现、提取能力

现场勘查发现、提取生物物证在很大程度上决定最后的检验鉴定工作，为了提高 DNA 检出率、数据库比中率，使其发挥作用最大化，因此提高作为生物物证发现、提取的主体的基层技术人员的能力水平显得尤其重要。目前，基层技术人员勘查任务重、人员少、压力大，并且接受培训的机会更少，所掌握的勘查技术已经跟不上新形势下的要求。因此，刑警支队每年都积极组织基层技术人员业务培训 2 次，相互交流新技术、新方法，以提高勘查能力。

4. 2　提高自身检验鉴定能力

随着 DNA 技术的日益发展，从以前检验血迹、精斑、组织等常规检材，发展至骨骼、微量及接触类等疑难检材在内的全部检材，这是对实验室技术人员的检验能力的考验，繁重的 DNA 检验工作量，还有临时性工作任务，导致检验人员疲于应付，从而导致检验不及时，质量不能保障。建议按规定人数配备技术人员，确保检验人员的休假、进修，对工作贡献大的人员予以合适的奖励，提高工作积极性，加强钻研精神，才有利于长期发展，提高自身检验鉴定能力。

4. 3　完善各项机制，规范数据库建设

以检验检测机构资质认定评审为契机，完善送检、人员培训、指导性文件等相关机制，加强实验室管理，提高检验鉴定能力。严格按照实验室认证的要求，对案件受理、仪器设备维护核查、DNA 检验、数据入库、质控库等工作均作了详细规定，统一检测方法，确保 DNA 检验和数据库建设的质量。

【参考文献】

[1] 刘小莹. 彭向丽. 夏邦勇. 江西省 DNA 数据库建设和展望［C］. DNA 数据库建设应用成果与展望Ⅲ. 2013：89-91.

宜春市公安局 DNA 数据库的建设和应用

敖　勇，杨小宝，周玉娟

（江西省宜春市公安局刑警支队，336000）

随着 DNA 检验技术的不断发展，DNA 技术已成为刑侦破案的一把利器。DNA 数据库是将 DNA 技术与计算机网络技术相结合的一门技术，与指纹、人像等数据库相比，具有国际统一的数据格式、唯一和不可更改、可判定血缘关系等特性，在个体识别方面有突出的优势，因此在刑侦破案中发挥的作用也越来越凸显。

1　宜春市公安局 DNA 数据库现状

宜春地处江西西北部，下辖三市六县四区，总面积 1.87 万平方公里，总人口 550 万。2009 年宜春市公安局 DNA 实验室成立，2010 年正式启动全市 DNA 数据库建设工作，现数据库总容量为 8 万。实验室现有正式民警 3 人，辅警 2 人，硕士学位 1 人，本科学位 2 人，遗传分析仪 2 台，扩增仪 5 台，自动移液平台 2 台。

2　宜春市公安局 DNA 数据库的应用

随着 DNA 数据库库容量的不断扩大，DNA 数据库在精确破案、串并案件中的优势越来越大。自实验室成立以来，利用 DNA 数据库比中案件近千起，其中命案 22 起，串并案件 420 余起，取得了显著效益。近几年成功的经典案例有以下几例。

2015 年 5 月 11 日，龙某萍在袁州区彬江镇三姑桥一按摩店内被杀。经 DNA 检验，在死者的右乳头拭子上检出一名男性和死者的混合 STR 分型。因混合分型不能入库比对，价值不大，案件就此陷入僵局。但技术人员凭借多年的工作经验和专业知识尝试人为将这个混合 STR 分型进行拆分，并将拆分后的男性 STR 分型数据录入全国 DNA 数据库中进行比对，成功比中一前科人员甘某龙（男，15 岁，袁州区彬江镇彬江村人）。甘某龙被抓获后，对犯罪事实供认不讳。

2012 年 7 月 20 日，宜春市宜阳新区官园街道樟树下发生一起入室强奸杀人案，黄某某（女，13 岁）在自己家中遭到强奸并被残忍的杀害。经 DNA 检验，现场提取的大部分检材均未得出 DNA 分型，只剩下死者的阴道拭子这一个关键物证尚在检验中。由于死者出血过多，使用常规的提取检验方法很难得到单一的男性分型，于是，DNA 实验室技术人员结合自己的专业知识及平时积累下来的工作经验，大胆尝试改进实验方法，并采取几组平行实验同时进行，经过三天的努力，终于成功在死者的阴道拭子中检出一个单一男性 DNA 分型，将该男性 DNA 分型数据录入全国 DNA 数据库中进行比对，比中前科人员易某平（男，宜春市袁州区人）。易某平被抓获后，对犯罪事实供认不讳。

2011 年 5 月 14 日，宜春市油茶林场新康府村新康组发生一起命案，徐某甜（女，14 岁，系宜春四中初三年级学生）死在自己家中。经 DNA 检验，在死者的阴道拭子和现场水桶中遗留的烟头上成功检出同一男性 DNA 分型。在排查 2000 多份嫌疑对象的血样后，仍没有比中，案件就此陷入僵局。专案组民警心里也开始犯嘀咕，是否检材检验出现问题了。但 DNA 实验室技术人员随时把现场的 DNA 数据在全国 DNA 数据库中进行比对。功夫不负有心人，2011 年 12 月 16 日，好消息传来，现场的 DNA 分型数据与全国 DNA 数据库中前科人员宋某志（男，32 岁，家住湖南省怀化市溆浦县卢峰镇）的 DNA 分型数据一致，从而利用 DNA 技术一举破获该案。

3　DNA 数据库建设中存在的问题

3.1　样本采集不规范

由于基层单位缺乏严格的规范管理，重复采集、漏采、人员信息录入不全或录入错误、样本保存不当等现象时有发生。虽然我们实验室对样本进行人员查重后再进行检验，但仍然有同人不同身份证号现象的存在，还有部分样品无法获得分型，在一定程度上造成了浪费。

3.2　样本保存环境不严格、储存空间日益不足

随着库容量的不断扩大，原有的建库人员血样储存室也越来越不能满足空间需求，而且不利于血样的查找，而且现有储存环境条件差，所以为了以后的发展，需要建立一个有着扩展空间、控温、控湿、专人管理、电子登记的血样储存室。

3.3　资金保障不到位

由于 DNA 实验室的经费没有纳入财政预算，不能及时保障，需建库人员的血样就不能及时检验入库，使数据库不能充分发挥其效能，增加了破案成本。

【参考文献】

[1] 云利兵，应斌武，侯一平. 法医 DNA 数据库建设与发展概述 [J]. 刑事技术增刊，2004.

[2] 刘小莹，彭向丽，夏邦勇. 江西省 DNA 数据库建设和展望 [A]. 葛百川. DNA 数据库建设应用成果与展望 Ⅲ—第三届全国公安机关 DNA 数据库建设应用研讨会论文选 [C]. 北京：中国人民公安大学出版社，2013：89-91.

DNA 实验室国家认可、资质认定通过后检测能力维持的探讨

惠婷华

（山东省青岛市公安局，266000）

1　DNA 实验室认可、认定的背景、目的及意义

一是近年来，随着 DNA 检验技术及其数据库在侦查破案和执法办案中的作用越来越突出，大批地市级、区县级公安机关新建的 DNA 实验室相继投入使用，截至 2014 年年底，全国公安机关共建成 DNA 实验室 501 个，各实验室检验水平参差不齐，保证鉴定的质量成了刻不容缓的工作。二是法律进程要求，2005 年通过的《全国人民代表大会常务委员会关于司法鉴定管理问题的决定》规定：有在业务范围内进行司法鉴定所必需的依法通过计量认证或者实验室认可的检测实验室。三是当今中国国际地位不断提升，国际间交流的加深、加快，我们的实验室参与国际间的交流越来越频繁。我们想要适应这个大环境，就必须通过实验室认可、资质认定来提升实验室自身的管理水平和技术能力，进一步完善质量管理体系，确保出具数据的准确性和可靠性，提高实验室的可信度，是提高鉴定权威性、公信力和国际法庭科学领域地位的必由之路。

2　DNA 实验室国家认可、资质认定的准备过程及通过后体系即实验室检测能力的维持与优化

青岛市公安局刑警支队技术处自 2010 年 9 月启动实验室认可工作，2011 年 9 月进行第一次现场评审，2012 年 11 月监督评审，2014 年 10 月通过复评审，2015 年 11 月监督评审，2015 年 12 月通过

公安部和国家质检总局组织的实验室资质认定评审，DNA 实验室作为刑事技术重要的专业之一，参加了所有评审过程，并以此为契机，持续运行与优化实验室体系，现主要从以下几个方面探讨。

2.1 领导高度重视，在人财物等方面，给予充分的保障，是整个活动顺利进行的基础

此项工作通常是“一把手”或分管领导亲自抓，大家参与性、主动性、积极性很高，按照要求精心准备，因此容易通过认可、认定现场评审，获得证书后领导的关注，是体系的维持、优化即实验室检测能力的一贯性保持并内化成实验室的核心战斗力的保证。

2.2 成立专门的质控室或组

在认可、认定准备阶段，成立一个指挥认可、认定的核心小组，便于工作统筹安排，现在大多数刑事技术检测机构没有专门的质量控制机构，多是检验人员兼职此项工作，日常工作繁重，没有更多精力关注体系运行情况，成立一个专门的质控室，有助于实验室认可、资质认定的顺利进行及并保障体系持续优化。

2.3 明确实验室认可、资质认定评审的准则及要求

主要有《司法鉴定/法庭科学机构能力认可准则》（CNAS-CL08：2013），《司法鉴定/法庭科学机构能力认可准则在法医物证 DNA 鉴定领域的应用说明》（CNAS-CL28：2014），国家质量监督检验检疫总局《检验检测机构资质认定管理办法》（总局令第 163 号），国家认监委《关于实施〈检验检测机构资质认定管理办法〉的若干意见》，《检验检测机构资质认定评审准则》，《检验检测机构资质认定刑事技术机构评审补充要求》等。

2.4 建立一个结构完整、层次分明、授权明确、执行有力的管理体系和质量体系

编写一套既符合评审准则又符合实验室实际工作需求的体系文件，在实际工作中进行体系运行磨合，密切关注各要素是否充分体现，各环节是否顺畅，有与实际工作出入的地方，及时对体系文件进行修改，并及时更新。加强体系文件的宣贯学习，在每年的人员培训计划里采取不同形式进行，从而达到将体系文件要求自觉落实到具体工作中。

2.5 人员管理。制定切合实际的本实验室人员培训及考核制度，并有效实施

实验室水平的高低优劣在很大程度上取决于人员素质和水平。积极参加各类外部业务培训，不断提高检测技能和水平，将体系运行、标准更新、质量监督等工作中发现的问题形成实验室自身组织的培训内容，还可以根据不同岗位人员进行有侧重点培训，组织形式多样的人员考核。

2.6 仪器设备管理

制定并实施《设备管理使用程序》《仪器设备期间核查程序》《仪器设备校准程序》，建立健全仪器设备维护保养制度，保证各仪器设备始终受控，运行良好，技术指标符合实验要求。

2.7 服务和供应品

制定并实施《服务和供应品管理程序》，实验室优先选择已经获得产品认证和/或质量管理体系认证的供应商提供的产品，考察供应商所提供产品的可靠度，尤其是日常检案中大量使用、对检验结果有影响的重要耗材、试剂等进行重点评价、质量验证确认。

2.8 方法

制定本室的《作业指导书》，并验证纳入 DNA 实验室内部文件体系，作为本实验室实验操作的标准。主要有三大类，一是根据国标、行标编写；二是根据设备制造商提供的方法；三是根据专业书籍及科研成果等。专人及时进行标准查新替换，国标、行标等标准及时更新替换，方法及时确认和验证。

2.9 设施与环境

本实验室单独一层实验楼层，分建库与检案两大区，受理室、耗材室、试剂配置室、检材存放室、模板室、初检室、提取室、微量提取室、加样室、扩增室、测序室等空间区域分隔，易污染区域

进行缓冲间设置，每个房间独立净化空调，不同区域实验用品及工具专用，配备移动紫外消毒车，配备个人的自身防护，建立完善的消毒制度，通过多种方式防止污染，保证环境对检验结果影响最小化，实验室环境安全、有序，保障检验人员及设备等的安全。

2.10 积极参加公安部组织的能力验证活动

通过参加能力验证活动可以使实验室对其出具数据的可靠性和有效性进行客观评价，这也是对实验室内部质量控制程序的一种补充。本实验室历年来一直参加公安部组织的能力验证活动，均取得满意结果。

2.11 实验室各记录的受控

一是体系持续性改进记录受控，在体系运行过程中涉及文件或记录反复修改，应在每次修改完备审批记录和修改记录，使整个过程受控。二是 DNA 实验室日常工作记录受控：案件受理、检验过程、检材进出、耗材出入库、各种方法验证等都需要记录并受控。

2.12、质量监督员的日常监督作用

从环境条件、实验过程和结果实施全方位质量监督，建立本实验室监督评价机制。

2.13 严把检验鉴定文书的质量

检验鉴定文书是 DNA 实验室检验检测活动运行的最终结果，高质量的检验鉴定文书以高质量的实验室检验检测活动运行来支撑，从案件委托受理，检材交接，检验过程记录到检验鉴定文书的制作生成，采取鉴定人复核制度、授权签字人审核、定期抽检等相应措施控制质量。

2.14 利用内审、外审和管理评审，评价实验室检验检测活动运行效果

每年对本实验室进行一次以上内审和管理评审，不断提高实验室检验检测活动能力。

在实验室认可、资质认定后仍能够不断自我完善，通过持之以恒的体系的维持与优化，实现实验室检验检测能力持续性改进，从而保证是实验室检验鉴定的程序合法，鉴定科学、准确、客观，维护司法公正，实现国际互认，提升实验室水平。

【参考文献】

[1] 葛百川，彭建雄，刘冰. 论 DNA 数据库实战应用的十大战法与能力建设［C］. DNA 数据库建设应用成果与展望Ⅳ——第四届全国公安机关 DNA 数据库建设应用研讨会论文选. 北京：群众出版社，2015：1-9.

DNA 检验辅助系统的研发与运用

王　超，姜治刚，桑运青，石　洁，李　伟，王瑗媛
（山东省菏泽市公安局，274000）

1 背景

当前，我国正在推进“以审判为中心”的刑事诉讼制度改革，DNA 技术作为侦查破案的支撑手段，在刑事案件尤其是命案的侦查和诉讼中起着重要作用，因此 DNA 检验的规范化建设显得尤为重要。

现阶段，一代的 DNA 数据库虽然能够进行数据录入、管理、比对等工作，但仅依靠 DNA 数据库存在以下问题。首先，DNA 数据库对案件受理和委托书的自动生成等方面存在缺陷。其次，由于 DNA 数据库需要在联网状态下进行工作，当网络、服务器出现故障、服务器维护等特殊情况下仅仅依靠 DNA 数据库会影响工作的连续性。再次，由于数据库数量巨大，不方便保存、区分数据的一些

细节，不容易及时发现污染、错误等意外情况，仅靠人工又容易出现遗漏，需要软件进行相关的辅助工作。最后，DNA 数据库在计算似然率等参数时，仅显示最终结果，不显示具体计算步骤，不容易检验，特别是在进行含突变的亲缘关系计算等特殊情况下会得到错误结果。

下一代 DNA 数据库的 LIMS 系统用于实现 DNA 实验室从检材/样本受理、实验室检验流程控制到 DNA 数据信息上报、鉴定文书管理出具的一系列管理的自动化、信息化和规范化。然而下一代 DNA 数据库特别市 LIMS 系统尚未普及，且依赖与数据库系统，同样存在网络无法连接等特殊情况，需要离线软件提供备选预案。

现有的离线似然率计算软件 DNA 概率计算器虽然可以进行 DNA 常规的个体识别和亲缘认定计算，但不能进行发生突变等特殊情况下似然率的计算，不能进行批量计算，不能显示计算的具体过程，此外不能生成鉴定书。

2 软件概况及功能

基于以上原因，为应对案件、检材日益增长，同时实现 DNA 检验进一步规范，本实验室结合实验室具体情况，开发了 DNA 检验辅助系统（见图 1）。

如图 2 所示，本系统包含以下模块。

第一，受理模块，该模块负责将委托单位提交的委托书转换为确认表，并将相关数据保存进数据文件中，同时生成 Dataload 表格，用以向 DNA 数据库批量录入案件信息。

第二，检验过程模块，本模块用以生成 DNA 检验过程中的各种记录表格。

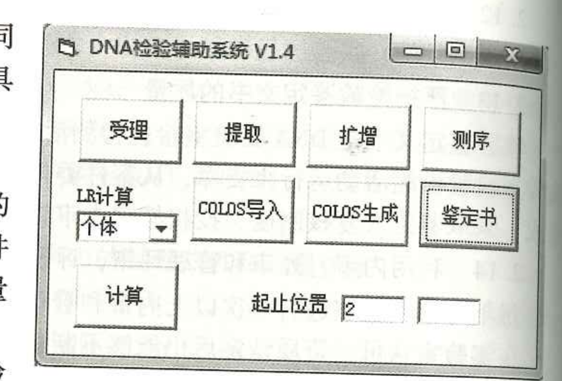


图 1　DNA 检验辅助系统界面

第三，数据导入导出模块，本模块可以将测序仪导出的 COLOS 文件中的 STR 分型导入进本系统的数据表格，并可以将本系统数据表格中的 STR 数据导出，用于导入进 DNA 数据库。

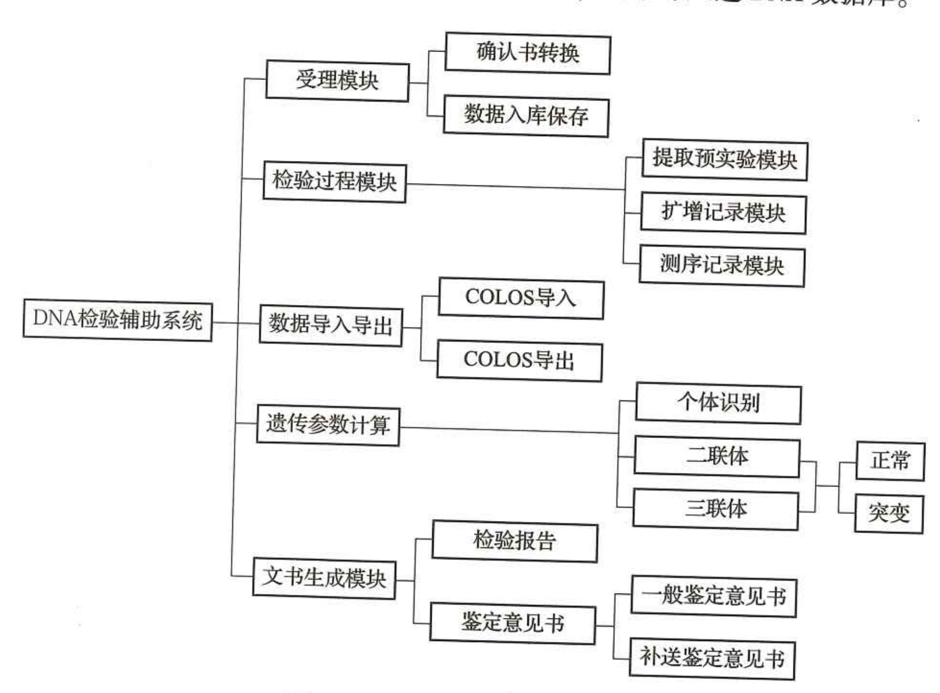


图 2　DNA 检验辅助系统组成结构

第四，遗传参数计算模块，本模块不仅可以计算个体识别的似然比率和全符合情况下亲缘鉴定的亲权指数，可以计算父（母）方发生突变情况下的亲权指数，而且可以显示计算公式及计算过程。

第五，文书生成模块，不仅可以根据数据表格的相关内容生成绪论和检验的相关内容，可以根据是否有亲缘、同一等情况自动区分检验报告和鉴定书，而且可以根据检材类型、位置、确证实验、预处理方法、提取方法、扩增方法、测序结果、同一认定（亲缘认定或混合）情况自动归类，生成论证和鉴定意见。

3 讨论与展望

通过 DNA 检验辅助系统可以方便进行数据的归纳、整理；可以实现从受理到鉴定书生成等自动化、规范化，可以方便进行追溯。可以进行突变情况下亲权指数的计算，并可以准确、快速生成大部分情况下（含补送）的鉴定书（和检验报告），大大提高 DNA 鉴定的工作效率。

下一步，将对系统已有功能进行进一步优化，适应性进一步提高，降低对委托书格式要求，并可以根据检材描述自动识别检材类型，进一步减少人工录入的工作量。开发全盲状态下，父母子匹配，为灾难、特大型车祸等群死群伤类案件的亲缘识别比对。开发混合基因分型自动拆分、比对模块，为得到混合基因的案件侦查提供支持。

【参考文献】

[1] 李盛，谢群，赵钊. 关于下一代 DNA 数据库构建的思考［C］. DNA 数据库建设应用成果与展望Ⅲ［M］. 北京：中国人民公安大学出版社，2013：43-46.

查重系统数据信息的挖掘与利用

——菏泽市两所人员 DNA 采集辅助管理系统的研发与使用

王　超，李　伟，石　洁，姜治刚，桑运青，王瑗媛
（山东省菏泽市公安局，274000）

1 背景

DNA 数据库违法犯罪人员查重录入系统作为 DNA 数据库应用系统的辅助统计管理系统，可以用于违法犯罪人员信息查重以及采集情况统计，可以方便了解本地已入以及将入两所人员 DNA 信息被采集的情况。

然而该数据库在实际使用过程中存在一定的局限性。首先，该数据库对市级两所人员的区分较好，但由于数据库仅依靠监管系统返回的办案单位名称关键词对其在县区层面进行划分，而监管系统中录入的办案单位名称情况各异，有不录入县区仅仅录入队所名称的，录入办案人姓名的有之，录入单位代码的有之，还有录入县区名称不规范的，致使系统在县区级层面上对两所人员的区分并不准确。以山东菏泽市为例，如图 1 所示，数据库将菏泽市绝大多数（68.3%）的两所人员仅划入菏泽市而未进一步划入县区。

其次，由于关键词抽提的逻辑较为简单，对有些对县区与派出所关键词一致的情况不能很好区分（如图 2 所示，当分县局行政区划选择为开发区时，系统不能区分是开发区分局还是县区下面的开发区派出所），另外，不能将属于交警管辖的案件区别开来。

入所/操作时间	2016-10-01 - 2017-01-31
检验单位	入所人数
山东省菏泽市	2303
山东省菏泽市市辖区	0
山东省菏泽市牡丹区	294
山东省菏泽市矿区	1
山东省菏泽市开发区	119
山东省菏泽市黄南分局	0
山东省曹县	127
山东省定陶县	65
山东省成武县	93
山东省单县	94
山东省巨野县	103
山东省郓城县	36
山东省鄄城县	55
山东省东明县	82
总计	3372

图 1　2016 年 10 月 1 日至 2017 年 1 月 31 日菏泽市（及县区）入两所人员数

山东省单县拘留所	开发区派出所
山东省鄄城县拘留所	开发区派出所
山东省成武县看守所	成武县公安局开发区派出所
山东省菏泽市拘留所	开发区分局

图 2　菏泽市开发区子系统中部分人员监所名称和办案单位名称情况

最后，由于数据库中仅通过将 DNA 数据库中信息与监管场所返回信息进行比对而获知相关信息，并不能获知相关人员血样的采集及流转情况，不能获知 DNA 未入库人员其未入库、未采集的原因。然而，入两所人员未入库、未采集的原因具有多样性，如监所（或 DNA）系统内信息错误、采血未入系统、未采血、采血未上交、已上交未做出、其他人员信息录入错误、入所前重复采集、入所后重复采集、重复录入等。

2　软件概况及功能

2.1　软件概况

本单位为了弥补查重系统存在的不足，对入两所人员血样采集入库进行进一步细致化管理，特开发菏泽市两所人员 DNA 采集辅助管理系统（见图 3）。本软件依托查重系统中的相关数据，并结合各县区的交卡信息，可以（辅助）获知查重系统内人员责任单位、血卡上交时间、上交单位、信息录入情况、是否重复采集等相关信息。

2.2　软件功能

如图 4 所示，本系统主要依托查重系统中的入所人数名单（新增表）、有背景信息 DNA 未入库数名单（未入库）、待采集数名单（未采集）以及各县区交卡时提交交卡名单（提交表），进行信息比对，从而获得入所人员更详细的相关信息，便于及时发现问题，进行督导。

通过系统上的检验按键，可以根据新增表中人员的办案单位名称、监所名称以及案情综合分析，将其标记上最可能的责任单位。

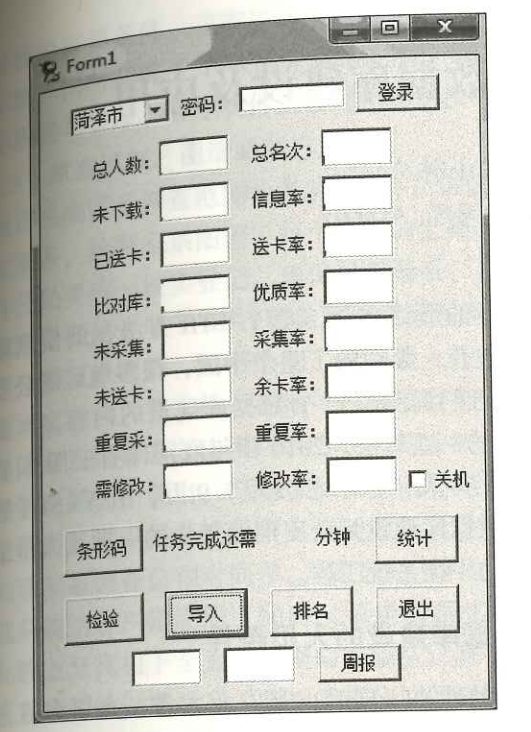


图 3　菏泽市两所人员 DNA 采集辅助管理系统界面

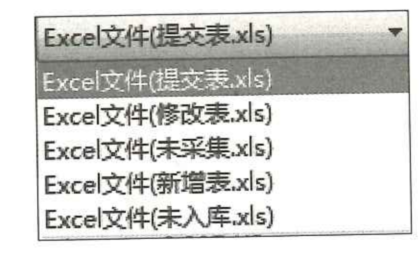


图 4　系统依托的数据表格

通过导入新增表，比对新增表中序号与原有已更新数据序号是否相同，将与原有数据序号不同的数据更新进统计表格，完成人员信息更新。同时，将新增数据中人员的身份证号与之前更新的交卡名单中未显示入所的人员身份证号进行比对，如有则根据其信息进行更新，并标记至已入所名单中。

导入各采卡单位提交的提交表，通过身份证号比对，如果名单中含有提交表中的人员，可以标记上交卡时间、单位、实验室编号、板号等信息，并在名单上将该人员标记为已交卡。

导入未入库（表），通过序号比对，可以对名单中未入库的人员进行标记，同时可以与名单中储存的实验室编号进行比对，如不相同则进行标记，可进一步人工查询确定是重复采集还是信息错误。

通过导入未采集（表），通过序号比对，可以对名单中未采集的人员进行标记，同时被标记为未采集的人员如存在交卡记录，可提示该人员查重系统内或 DNA 数据库系统内人员信息有错误。

3　讨论与展望

依靠 DNA 采集辅助管理系统可以辅助对两所人员 DNA 采集、上交、入库的情况进行管理查询，可以及时发现人员的未采集、未入库情况，并可以及时发现人员信息错误、重复采集等情况，便于及时进行更正或其他补救措施。此外，利用软件的检验功能，完善人员的分配，准确确定两所人员的责任单位对应的县区。从而，使对两所人员 DNA 采集更加规范化、系统化。

下一步，将对系统进行进一步的优化，使信息更加准确，同时优化算法，提高比对的效率，减少比对的时间。甚至可以利用机器学习的有关原理、算法进一步优化系统，使之更加智能化，进一步提升两所人员采集的管理水平。

河南省安阳市 Y-STR 数据库建设及应用

杨　纳，陈小伟
（河南省安阳市公安局刑科所，455000）

2016 年甘肃悬疑长达 28 年的“白银连环杀人案”的最终破获，是 Y-STR 方法在刑侦领域对重大悬案的首次成功应用，为未来提供了借鉴。案件的破获，轰动的了整个中国，很多地区的公安机关对 Y 数据库建设产生了浓厚的兴趣，我们经常会被同行们询问关于 Y 数据库建设的内容。本文就结合安阳市 Y 库建设的情况给大家谈谈对 Y 数据库建设的一些看法。2016 年年底河南省安阳市 Y-STR 数据库建设已经基本完成，其中涉及的男性总数为 201 万人，家系总数为 7.9 万，有 Y-STR 数据总数为 17 万个，其中利用 Y 数据破案总数为 56 起。Y 数据库建设是公安刑侦工作的一项重大举措，是社会管理创新的又一新机制，是功在当代、利在千秋的一项系统工程。

1　河南省的地理环境和居住习惯具备 Y 数据库建设的人员条件

河南省地处内陆，相对于“北上广”等大城市流动性小，同时也是农业大省、人口大省，农村人口占 60%，同时农村人口普遍以家族聚集的方式居住，大部分行政村的人口由几个大的姓氏组成，每个姓氏的传承关系比较清晰，具备了建设 Y-STR 数据库的人员条件。因此对河南省安阳市涉农人口建立 Y-STR 数据库，确保重特大案件发生后能够第一时间运用“以 Y 找群、以 DNA 找人”的方法快速侦破案件。

2　河南省公安机关 Y-STR 家系排查分析系统为 Y 数据库建设提供了软件平台

2012 年省厅开展了在全省范围内 Y 数据库建设的工作，2013 年由河南省公安厅刑科所、河南省郑州原动力信息科技有限公司共同研发的“Y-STR 家系排查分析应用系统”服务于全省的 Y 数据库建设。系统设计建立了“家系图谱信息库”和“Y-STR 信息库”两个信息库。还兼具“实验室管理”和“数据库比对”两大功能。同时系统自动抓取人口户籍信息，支持多源信息录入。

在 Y 数据建设过程中，安阳市遵循“边建边用”的原则，要求检验人员对每个检材除了进行常规常染色体的检验的同时对 Y 染色体检材进行检验同时录入河南省公安机关 Y-STR 家系排查分析系统。破获了不少有影响的案件，让 Y 数据库建设的意义得到了很好的发挥和应用。

3　具体落实与实施工作中存在的问题与关键

3.1　成立 Y 数据建设领导小组

Y 数据库建设的过程是个省、市、县纵线联动，案件、治安等多警横向合作的大工程。所以我市设立了以时任局长任组长的 Y 数据库建设领导小组，明确各县（市）局以及六个涉农分局为家系调查的范围，其他市区分局不在 Y 建库的范围内。同时各县（市）局、分局统一设立领导小组，设立联络员，以很好地完成各层公安机关、各警种之间的对接。

3.2　规范制定与技术培训

Y 数据库建设初期市局按照省厅要求，建立了《安阳市公安机关 Y-STR DNA 数据库建设方案》同时制定了家系调查、图谱绘制、家系信息录入、样本采集、生物样本存放、纸质材料存放、DNA 扩增试剂推荐等标准。“工欲善其事，必先利其器”，所以一系列的规范与标准出台也是 Y 数据库建设的建成的首要条件。我市进行了多轮的技术培训与指导，让基层民警对 Y 数据库建设的相关知识了然于胸。同时开辟了 Y 数据库网络专栏，将相关规范与建库情况及时通报更新。技术人员在建库过程中积极与省厅、省厅软件工程师沟通解决一切技术问题和疑惑。

3.3　家系调查、图谱绘制方法

我市明确家系调查范围为各县（市）、市区中的农村人口，查清本辖区内常住户口中的男性公民及所在家系，绘制家系图谱，每个家系的上限、下限、旁支人口要调查延伸到边，对外来、空挂户口的男性公民要逐一核实登记，确保村不漏系、系不漏支、支不漏人。

我市公安局开展 Y-STR 数据库建设家系调查工作基本有两种工作模式：由治安民警负责所管辖的片区开展家系调查、图谱绘制、家系录入；一村一警制，一个民警负责所包的行政村家系调查、图谱绘制、家系录入等工作。各地可以根据自身实际情况采用适宜的调查模式。

具体家系调查的方法可以参考我市的方法：由民警将各行政村所有男性人口数按照姓氏从公安常住户口管理系统中调出，打印成册，同时将电子档拷贝到自己的电脑中备用。提前和村干部搞好沟通，让他们从村中每个姓氏中有威望的老者协助工作。首先询问有无纸质家谱或者“家谱轴子”，如果有的话家系调查会相对简单，“家谱+户籍地册+群众帮忙”三者结合。如果没有可以参考的家谱资料，就只能结合户籍底册、同时又请老者帮忙参照“九族五服图”所有男性的关系进行家系调查，纵向九族上至高祖下至玄孙，横向五服从己身—亲兄弟—堂兄弟—从兄弟—族兄弟的关系进行家系调查。家系草图绘制完成后，要根据打印好的男性人员名单对家系图进行完善，把名单上的人员全部绘制到家系图中。家谱记载的姓名和户口登记的姓名不一致，还有汉字同音字的因素的情况，在村中村干部和村民的指点下完成这个步骤，回到单位后直接往电脑里输就行了，会大大提高工作效率，事半而功倍。

3.4　血样采集遵循五大原则

一是 5 人以下家系每支采集 1 人样本；二是大支密采原则，6 人以上家系每支采集 2 人样本，很大的家系可以适当加密采集；三是远亲采集原则，要求家系中被采集人之间亲缘关系应尽可能远；四是旺支采集原则，在家系中人数较多的分支中采集；五是外来必采原则，家系中若有收养、抱养、入赘及娶妻带子等情况的，应采集上述人员或其一名男性后代的样本。另外，要求被采集人尽量选择在 15 岁至 45 岁。

3.5　确保质量过硬，加强督促、督导

家系图谱的质量是 Y-STR DNA 数据库建设的基石，错误的家系信息，将会影响数据的使用，影响研判的准确性。所以要对数据库建设的家系检验人数和数据库的检验位点严格把关。

3.6　试剂盒的选择与应用

随着 Y 染色体检验在案件中发挥作用的日益凸显，国内外市场上的试剂盒也是多种多样的。笔者认为如果在全省建立 Y 数据库的话应该尽量统一试剂盒的位点，同时采用位点数较多的试剂盒。这样当物证比中家系的时候能为后期的排查减少很多的工作量。

案例：1999 年 1 月 23 日，浙江省金华地区兰溪县女青年章某飞（女，21 岁）在安阳县宝莲寺镇南田村 107 国道东被强奸杀害，因侦查、技术水平等原因，17 年前的案件久侦未破。前期经过多次检验，提取的检材所剩无几，精斑预试验检验又是呈阴性反应，检验难度很大。后经过运用硅胶膜法，成功将该物证 Y 染色体数据扩增至 27 个，并在本市 Y 数据库中比中宝莲寺镇南田村朱某喜家族。顺着家系图谱追踪到朱某平家，调查朱兄弟共 8 人，除 1 人死亡、2 人送养外，采集了其他兄弟 4 人血样，但老大朱大喜作为一个老上访户拒不配合。DNA 技术人员对 4 人的 DNA 图谱分析发现，朱某平的 DNA 图谱既与现场物证 Y 数据完全相同，又符合亲缘关系，且共有基因数达 19 个，技术人员结合调查情况研究认为，不能排除同胞兄弟关系，在排除其他 3 人的情况下，先采取朱某喜的生物

样本进行检验，其DNA数据与现场物证认定同一。朱某喜到案后，最终交代了强奸杀害女青年的罪事实。

浅谈大数据时代下DNA数据库的建设应用

姜 涛[1]，姜 飞[2]

（1. 河南省焦作市公安局山阳分局，454000；2. 广东省深圳市公安局罗湖分局，518000）

在大数据时代背景下，DNA数据库具有的大数据属性，不但包括DNA分型，而且包括犯罪的时间、空间、类别、手段以及涉案人员的地域、民族、行为等多方面的大量数据。目前，DNA数据库已成为全国公安机关优化侦查破案方式，为攻克疑难大案、要案，精确打击犯罪提供坚实技术平台。本文将对整合DNA数据库数据资源和海量社会信息的方法，改善单一比对模式与当今公安业务以及技术发展不匹配的缺点，构建横向集成、纵向贯通、高度共享的全方位信息化平台，对数据实行必要再造、进一步对应用拓展，使其更好地服务破案实践进行简要阐述。

1 DNA数据库现阶段存在的问题

1.1 DNA数据库自身数据不充分挖掘

当前，我们国家DNA数据库的最大优势以及用途是人的个体识别，基于数据的完全匹配和亲缘关系检索是最主要的应用模式。但是，这种应用模式并没有充分体现DNA数据库本身数据价值，主要体现在：基于DNA分型数据的个体识别匹配结果未形成之前，许多的案件、物证、人员的相关数据信息处在沉寂状态；由于DNA数据库匹配结果的表现形式（一般呈两个样品一对一的形式），数据库匹配结果（包括有关的案件、人员等信息）的局限性，其应用总是孤立并非关联的。

1.2 和其他数据库关联差，不能进行多库联查

当前，我国公安机关刑事技术专业数据库包括现场勘验信息系统、DNA数据库应用系统、人像自动识别数据库、指纹自动识别数据库、无名尸体数据库、失踪人员数据库等。但是每个数据信息之间缺少有效关联，各个专业系统间的数据共享及整合程度差，很难支持信息的综合应用及深度研判，不能体现DNA数据库信息应用的更大价值。

2 DNA数据库信息化建设的构建设想

2.1 对数据库自身信息的深入研用

从数据结构上看，DNA数据库具备在如下几个方面更加深入应用的可能：高发、高危犯罪人员和时间、空间、人群等维度的动态关系分析。以比中结果中的人、案关系为主线，借助人员基本信息、案件现场物证信息等进行关联、合并，从而实现人案关联确认，缩小侦查范围，为案件侦破提供重要线索。典型犯罪行为在时空中的分布呈现、演化及预测，以比中结果中的案、案关系为主线，通过案（事）件编号、案（事）件基本信息、涉案人员编号、人员身份证号、作案特征、发案轨迹、人员活动轨迹、团伙分析、生物特征等标识类信息进行关联、合并、续串，发掘人案关系、案案关系，从而实现案件串并、案件侦破的目的；相关性模式分析人个体遗传信息与行为规律。以来自于情报、警综、刑侦专业等系统的高关注人员、橙色人员为应用对象，以人员基本信息、涉案情况、作案特征、生物特征为基础，综合利用轨迹分析、多维查询、关系挖掘等多种段，对人员进行深入分

析，发掘相关线索。上述应用突破DNA数据库在刑事侦查中传统的应用模式，当今DNA数据库的功能要求呈现多警种、多部门、多角度、多领域、复杂化趋势，这显然具有非常大的的价值。

2.2 与其他数据库的交换共享，进行信息研判

按照统一的标准通过数据交换和共享机制，在综合性信息资源库刑事技术核心业务数据库如“DNA数据库”、“指纹数据库”如“全国人口信息库”、“全国重大刑事案件信息系统”等中获取各种信息，逐渐形成描述统一、内容完备包含案（事）件、人员、物品、生物特征、数据关联等信息的数据仓库，利用信息研判工具如“比对碰撞”、“信息布控”、“关系挖掘”等专业工具，实现刑事科学技术信息资源的灵活动态调度、综合管理、分析研判，并将研判信息动态发布、推送。

2.3 创建DNA数据库信息化功能框架

DNA数据库的信息化建设应该在整个刑事科学技术及各类综合性信息资源信息化进程的发展中，建立数据互通，筹建统一的资源管理中心，不仅要努力挖掘自身数据库数据最大价值信息，深入分析，使其在犯罪规律研究、犯罪动态分析、公共安全管理决策等领域发挥自身的应有的潜力和价值。而且应改善与其他数据库的接口设置，早日进行资源共享，动态研判，促进案件串并、人案比中、高危人员的信息掌握等，发挥DNA数据库打击犯罪等方面的作用。

信息化对于公安工作现代化必不可少，是提升刑事技术工作能力、提升刑事技术服务水平、打击犯罪的重要工具。深入挖掘数据库自身的优质资源，加强与其他数据库的关联，实现资源共享及拓展，必能在很大程度上发挥DNA数据库打击犯罪精准利器的作用。

关于Y数据库建设与应用的思考

张 强，闪春霞，王 磊，马培玉

（河南省焦作市公安局犯罪侦查支队，454002）

为了搞好焦作市Y数据库的建设，提升刑事科学技术破案效能，为打防犯罪工作增加新的技术支撑点，焦作市公安局根据河南省公安厅的统一部署在本辖区内开展Y数据库建设工作，截至目前，该数据库已基本建成。工作中，焦作市公安局本着“边建、边用、边见实效”的工作方针，使该数据库在侦查破案中发挥了积极的作用。现将我们在Y数据库建设与应用方面的体会与同人交流如下：

1 焦作市Y数据库概况

我市Y数据库建设涉及辖区6个县（市）局与8个城区分局，覆盖我市全部农村户籍男性人口。目前共录入家系112386支，涵盖健在男性1432906人，平均12.75人/家系。入库Y-STR数据260773条，其中嫡生Y-STR数据244455条，外来Y-STR数据16318条，有Y-STR数据的家系比例已达到100%。

2 Y数据库建设的具体做法

2.1 加强组织领导，切实推行“一把手”负责制

为了加强该数据库的建设，焦作市公安局党委明确要求各单位切实把思想和行动统一到省厅和市局党委的部署决策上来，将Y数据库建设作为当前和今后一个时期的重要任务，把该工作列为“一

把手”工程。各单位 Y 数据库管理员直接向本单位“一把手”汇报工作进展与存在问题，并通过内网主页、微信工作群等媒介每日发布辖区各单位工作情况。

2.2 强化培训督导，多头促进数据库建设

一是利用电视电话会议、现场推进会等形式全面培训，解决共性问题；二是送教上基层、进村现场指导，进行点对点的指导，解决具体问题；三是成立督导小组，不定期对各单位进行抽查督导，及时纠正发现的问题。

2.3 归纳工作要点，便于基层工作

在进行家系排查的过程中，结合农村家系分布特点，总结出“家系排查六字诀”，分别为：全，Y 数据库涵盖男性人员要全。大，家系规模要达到一定规模。异，家系内异常情况尽量落实标记清楚。准，人员信息要准确。细，家系排查要细致。责，责任要清晰，具体到人。

2.4 总结 Y 数据库+技战法，发挥其破案效能

传统 Y-STR 家系排查法需要大量的人力、物力支持，在遇到重特大案件时可以得到充分保障，但有时遇到案值小，办案人员或者办案经费不足等情况时，如何更好地利用 Y 数据库比对结果就成为摆在面前的难题。通过焦作市几年来的实践与摸索，逐步形成了一条以 Y 数据库划定嫌疑人空间（区划）、范围（姓氏），结合传统侦查、网技、视频、大数据等多元化信息平台进行信息碰撞从而侦破案件的 Y 数据库+技战法。2012 年以来，焦作市公安局利用该数据库共破获现行命案 4 起，命案积案 3 起，一般性案件 237 起，在焦作市的侦查破案工作中发挥了很好的作用。

3 利用 Y-STR 数据库破获的典型案例

3.1 博爱“2002.7.1”乔某春死亡案

2002 年 7 月 1 日，博爱县阳庙镇大街上一商店老板乔某春被人杀死在自己的商店内。

2014 年 12 月通过对现场遗留的受害人内裤上的精斑加做 Y-STR 检验，经过数据库比对，零容差比中武陟县小董乡乔庄村的“侯”姓家族和岗头村“王”姓家族，通过重点摸排和采样比对，锁定到新中国成立前迁至阳庙镇前四村的一支侯姓分支，最终，确认该支中侯某洋与现场物证常染一致，从而破获此案。

3.2 马村“2007.2.5”恶性抢劫出租车杀人案

2007 年 2 月 5 日，焦作市豫 H-TA8××出租车被抢，司机樊某华（男，62 年出生）被杀死于焦作市马村区安阳城乡田门村。次日在濮阳市濮阳县王称固村一废弃的预制板厂发现了被抢的出租车。50 余名专案队伍随即转战濮阳，展开地毯式拉网排查，但专案组经过十个多月的努力，最后无功而返。

2016 年 4 月对现场提取的出租车方向盘正中处血迹重新进行 Y-STR 检验，增加位点数，在全省范围内比中新乡市封丘县陈桥镇古城村柳姓、杜姓家系和周口市太康县转楼乡黄岗村李姓家系。结合犯罪刻画、外围调查和 DNA 检验，将范围缩小到新乡市封丘县陈桥镇古城村柳姓家系中一支第四代在内蒙古鄂尔多斯打工的柳亚某和在新疆伊犁打工的柳某红身上。2016 年 5 月 11 日 17 时 45 分许，犯罪嫌疑人柳某红在成都机场登机口被抓捕组成功抓获。经就地突审，其供述了伙同犯罪嫌疑人张某、杜某东抢劫出租车杀人的犯罪事实。

3.3 修武“1991.5.23”强奸杀人案

1991 年 5 月 23 日，在河南省焦作市修武县五里源乡新河农场机井房，魏某敏（女，31 岁，家住河南省修武县五里源乡河湾村）及其子曹某平（男，4 岁）被杀后抛尸体于野外机井中。此案久侦未破。

2016 年利用 Y-filer 检测结果在本地 Y 数据库中进行比对，零容差比中家系 932 个。于是对现场所留物证进行加做位点检验后，零容差在本地库中未比中家系，经跨区域比对，17 个位点零容差比

中商丘市宁陵县程楼乡西史庄村一史姓家系，通过对该家系梳理并采集血样进行常染检验，发现史某顺家系中史从朗血样的检验数据与现场物证的检验数据 Y-STR 分型一致，常染 STR 分型符合单亲遗传关系。遂将史某朗其他三个儿子采血检验，结果逐一排除。然后利用检验所的相关数据推算史某朗妻子（已去世）的基因分型，来进一步验证与现场物证上 DNA 的关系，再结合犯罪刻画、犯罪嫌疑人活动范围调查，进而将 2006 年已经死亡的史某朗的大儿子史某周作为此案的重点犯罪嫌疑人。2016 年 5 月 27 日，在当地公安机关的配合下进行开棺，提取了犯罪嫌疑人史某周的磨牙 12 枚及双侧股骨共 2 根，将检材送至公安部物证鉴定中心进行 DNA 检验，确认了“1991.5.23”恶性强奸杀人案的犯罪嫌疑人就是史某周，从而使这起掩藏了 25 年的恶性案件最终得以侦破。

3.4 武陟“2016.3.23”杀人案

2016 年 3 月 23 日 12 时，武陟县大封镇驾部一村村民冯某（女，汉族，75 岁，武陟县大封镇驾部一村人）被杀死家中。

经现场勘查，在中心现场及死者家门口对面菜地边的可疑脚印旁分别提取到一枚较为新鲜的烟头，这两枚烟头质地相同。经检验，其 Y 数据比中武陟县大封驾部二村一石姓家系，此家系较小且符合年龄段有作案时间及条件的人就只有石某（男，汉族，37 岁，武陟县大封镇驾部二村人）一人，随即取其血样进行检验。结果其血样 DNA 与现场烟头一致，经审讯石某供认不讳。此案历经 26h 成功告破。

4 思考

家系排查工作要扎实。前期基础工作要详尽扎实，若能做到“全、大、异、准、细”，会使以后的侦查工作简单、快速、有效。例如，案例 3.4，比中家系的情况及家系成员的基本情况，通过数据库的查询一目了然，为案件的侦破提供了较为准确的信息，从而使该案可以快速侦破。

数据库的建立要选择合适的试剂盒。一是试剂盒的位点不能太少。例如，案例 3.3，利用 Y-filer 检测结果在本地 Y 数据库中进行比对，零容差比中家系 932 个，侦查工作难以进行。遂对现场所留物证进行加做位点检验后，零容差在本地库中未比中家系。经跨区域比对，17 个位点零容差比中商丘市宁陵县程楼乡西史庄村一史姓家系，使侦查工作行之有效。二是要考虑到建库所用试剂盒与案件物证检验所用试剂盒的匹配，以利于后期的检验、比对工作。

数据库所使用的试剂盒的位点要统一。位点不统一，不仅影响具体的比对工作，而且还增加检验部门的工作量。

比中的位点数及容差数在比对和信息反馈中量的把控很关键。在上文的案例 3.1 中我们采用的是比中 21 个位点零容差，而在案例 3.2 中由于不同地域采用的试剂盒不同的原因，我们采用的比对结果的是比中 17 个位点零容差。这就要求检验人员在比对过程中要根据具体情况来给出一个合理建议。向办案单位推送的范围过大会增加工作量，范围过小可能会遗漏。

对于某些罪犯在犯罪后漂白身份，从事正当职业的案件，甚至因各种原因犯罪嫌疑人死亡的案件，利用 Y-STR 数据库来寻找突破口，不失为一个好方法。案例 3.3 的侦破就是一个很好的例子。

在利用 Y 数据库的同时结合传统侦查、视频、信息、大数据等各种手段，会收到事半功倍的效果。

对 Y-STR 分型相同合并家系的问题进行进一步的研究；对更适合中国汉族人群的 Y-STR 基因座进行进一步研究，特别是 SNP 技术在此方面的研究与应用。

DNA 技术在打击“盗抢骗”专项行动中的应用及思考

毛　坚[1]，梅云黎[2]，牟月新[1]
（1. 湖北省宜昌市公安局，443000；2. 湖北省秭归县公安局，443600）

近年来，尤其是 2016 年全国公安厅局长会议提出推行打击犯罪新机制，组织开展为期三年的打击“盗抢骗”犯罪专项行动以来，宜昌市公安局 DNA 实验室以服务实战为核心，充分利用 DNA 技术及 DNA 数据库侦破“盗抢骗”案件，取得了显著效果。同时工作中出现的一些问题也引发了我们的思考。

1　案例资料

案例 1：2016 年 12 月 23 日，五峰镇派出所接到村民杜某电话报警称：放在自家茶厂操作间内的天麻不见了，初步损失价值 30 万元。案发后，侦查人员在开展现场勘查的同时迅速开展视频侦查。在视屏侦查时发现犯罪嫌疑人名目张胆的从现场大门进入，直面不避地对着监控探头，作案手段嚣张至极。犯罪嫌疑人头戴帽子、面戴口罩、手戴手套，作案手法老练，中心现场未留下有价值的痕迹物证。现场勘查工作范围进一步扩大，且在作案现场交叉路口发现两名犯罪嫌疑人丢弃的口罩和帽子。经检验，从送检的口罩和帽子上分别检出不同男性基因型，录入 DNA 数据库成功比中前科人员陈某念、夏某清。在确定犯罪嫌疑人身份后，侦查人员成功将陈某念、夏某清抓获归案，缴获涉案天麻 189 公斤。

案例 2：2015 年 6 月 6 日，夷陵区邓村乡杨家湾村易某家被盗窃，现场提取烟头一枚。

2015 年 10 月 20 日中午，夷陵区下堡坪十八弯村宋某家被人入室盗窃，现场提取烟头一枚。

2016 年 2 月 24 日，夷陵区雾渡河镇小庙村三组刘某家被人砸窗齿入室盗窃，现场提取木质窗齿一根。

2016 年 12 月 20 日，夷陵区雾渡河镇龚家河村陈某在家中被他人诈骗现金 1400 元，现场提取嫌疑人喝过的饮料瓶一个。

对上述案件现场提取送检的生物检材，全部成功检出 DNA 分型并录入全国公安机关 DNA 数据库，实现了案件的成功串并。2017 年 1 月 13 日，DNA 数据库显示上述检材比中违法犯罪人员李某。李某到案后，在强有力的证据支持下，如实交代了其自 2015 年上半年以来，窜至夷陵区邓村乡、务渡河镇、下堡坪乡和兴山县高岚镇、水月寺镇等偏僻乡村实施盗窃、诈骗近 20 起的犯罪事实，涉案价值近 10 万元。

2　讨论

随着近年来公安机关开展打击“盗抢骗”犯罪专项行动，各级指挥员、侦查员及现场勘查人员更加重视并加大了对盗窃、抢劫、诈骗等各类侵财案件现场的生物检材发现提取力度，通过 DNA 技术和数据库破获了大量案件。

通过案件的侦破，我们进行了深思探讨，并总结提出以下建议：

2.1　加强技术培训，提高勘查质量

从理论上来讲，只要犯罪分子活动过的现场，必定会留下痕迹物证，这就要求现场勘查人员具备较强的现场勘验能力来发现并提取物证。可以说，提高现场勘查质量，发现并有效提取嫌疑人遗留在

现场的生物检材，是发挥 DNA 技术破案作用最关键的一环。刑侦支队领导清醒地认识到加强对基层刑侦部门指挥员、侦查员、尤其技术员进行 DNA 知识培训的必要性和重要性。为此，支队、各县市区分局举办了多轮次的培训，从生物物证种类、提取方法、提取要点、检材的保存和送检等方面做了深入浅出的讲解，提高了基层专、兼职技术员应用生物检材的意识和发现、提取能力，确保了现场勘查的质量。

2.2　认真学习钻研，提升检验水平

基层侦查人员应用生物检材的意识和发现、提取能力提高了，送检的生物物证检材数量、检材种类大大增加，尤其是接触性 DNA 检材更多更广，尤其是侵财类案件现场的生物检材常常量少质劣，这对 DNA 检验技术人员的检验能力提出了更高的要求。刑侦支队为提升 DNA 技术人员的检验能力和水平，先后派出两名同志赴公安部物证鉴定中心、省厅、武汉市局等地进行学习进修，逐步提升了 DNA 技术人员对各种 DNA 检验技术的检验能力和水平，确保了生物检材的检验成功率，为侦破案件奠定了基础。

2.3　借助认可认定，做实管理规范

近年来，宜昌市公安局 DNA 实验室借助国家实验室认可和实验室资质认证的契机，大力加强实验室规范化建设，先后通过了实验室国家认可和资质认证。通过认可认证，促进了宜昌市 DNA 实验室规范化建设，先后通过了实验室国家认可和资质认证。通过认可认证，促进了宜昌市 DNA 实验室实验环境、实验人员、实验方法以及鉴定文书符合规范要求，实验室规范化管理水平达到了一个新的高度，确保了生物检材检验结果的客观性、科学性和可靠性，为侦破案件提供了质量保证。

2.4　加大对数据库比中人员的落地核查力度，将 DNA 数据库比中线索转化成破案战果

宜昌市公安局组建成立了合成作战中心，组成了由警令部、情报信息部、视频部、刑事技术、技侦、网安合成作战，一方发力，多方响应，有效整合了资源和力量，优化了工作机制，推进了深入应用，不提升打击犯罪的能力和水平。

2.5　关于跨区域系列案件物证鉴定文书出具的探讨

近年来，跨区域系列团伙案件越来越多，案件侦办过程中经常遇到这样的问题。例如，2016 年 3 月 6 日，我市发生一起入室盗窃案，提取的现场物证通过 DNA 数据库比中了犯罪嫌疑人李某，并串并了外地 A 省的一起盗窃案。2016 年 3 月 15 日，我市办案民警将李某抓获，为了扩大战果提高小案的重型率，就需要把全国各地涉案的案件放到一个办案单位整体移送起诉。那么就出现 A 省的那起盗窃案件的物证鉴定文书该谁出具的问题？笔者认为立案地公安机关针对 DNA 比中的案件，需要调取外地公安机关物证文书，可以将相关需求发送至协作地公安机关，请求帮助。协作地公安机关应当根据相关法律、法规、规定尽快出具本地案件的物证鉴定文书，为打击跨区域系列团伙案件提供有力的技术支撑。建议有关主管部门出台相关规定。

浅谈采集沙洋监狱在押服刑人员血样 DNA 建库在刑事案件侦破中的作用

马卫东
（湖北省荆门市公安局刑侦支队，448000）

沙洋监狱是全国第二大的监狱，下辖 13 个监狱，遍布天门、钟祥、潜江、沙洋、京山等县（市），主要的几个大的监狱设在在荆门市辖区内。目前沙洋监狱在押人数较多，每年均有新入监的

人员。经调查，这些新入监的人员未采集血样入 DNA 数据库的占 30%~40%，2013 年之前入监的人员有 70%未采血入库。因涉毒、抢劫、强奸等违法犯罪人员重复犯罪比例很高，而且一部分人犯罪呈逐步升级演变，由偷、抢轻罪演变到命案重罪的情况屡见不鲜。因此刑侦部门与监管部门要密切配合，扩大违法犯罪人员采样范围，保证看守所、戒毒所全部入所人员、拘留所全部入所人员，监狱在押人员等都应纳入我们的采样范围。根据此情况，我局决定派出采血专班到沙洋监狱进行入监采血，全部在押人员均采集血样检验入库。

2013 年 6 月，荆门市公安局刑侦支队组织法医鉴定所全体技术民警赴沙洋农场采集在押服刑人员血样，在 5 天内共采集 16800 余人份 DNA 建库血样。建库血样经 1 个月检验，全部录入 DNA 数据库，我们及时开展了全库比对。通过比对沙洋监狱采集的服刑人员血样直接破获了一批盗窃、抢劫、杀人等案件。

1 典型案例

2008 年 3 月 10 日晚，广东省东莞市东城区旗峰天下花园紫荆苑九柜 A 单元 502 号外国人史蒂芬·××被人抢劫杀死。东莞市公安局技术人员提取了现场房间床头侧地面上滴状微量血痕，经东莞市公安局 DNA 实验室检验，获得一犯罪嫌疑人 DNA 分型。

2010 年 9 月 16 日凌晨，荆门市东宝区泉口丁香园小区梅园 4 栋 201 室的王某某被持枪抢劫，东宝分局技术员及时勘验现场，在现场卫生间南墙上提取了微量血痕，经 DNA 检验与广东东莞"2008. 3. 10"史蒂芬·××被杀案现场微量血痕 DNA 比中并案。技术员及时将并案情况通知了东宝公安分局和东莞市公安局。后此两案件一直未比中嫌疑人。

2015 年 6 月 3 日，DNA 技术员在查看荆门 DNA 数据库比中通报时，发现我们 DNA 实验室在 2013 年采集的沙洋监狱服刑的在押罪犯魏华血样与上述两案现场物证 DNA 数据串并比中。经过 DNA 技术人员复核检验后确认，直接破获荆门市"2010. 9. 16"东宝区泉口丁香园小区梅园 4 栋 201 室王某某被持枪抢劫案，串并破获 7 年前广东东莞"2008. 3. 10"史蒂芬·××被杀积案。

2 讨论

（1）切实加强组织领导。荆门市公安机关刑侦部门和沙洋监狱成立联合工作组，科学分工，确定刑侦支队法医鉴定所负责协调及落实血样采集工作。

（2）发动监狱医院的医生帮助采血，以传染病疾病排查的名义进行，减少在押人犯的抵触情绪。有利于在押人犯的配合加快采血进度，防止在押人犯出现过激行为或意外事件，杜绝拒绝采样的现象，监狱医院的医生采样前需进行半个小时的简单培训。

（3）对监狱部门帮助采集血样的工作人员予以补贴，对采集在押人犯血样 DNA 的单位和个人，如果在今后 DNA 数据库比中重大案件的，根据案件大小给予适当奖励。

（4）提前安排好 DNA 采集耗材的采购及分发。落实每个监区的在押人犯血样 DNA 统一样本编号范围。

（5）2014 年以来，沙洋监狱犯人采集 DNA 血样建立了常态化机制，在犯人入监的平时就由监狱狱医及时采集血卡，避免集中大批量采集，防止出错，防止影响监狱正常的管理秩序。目前采集监狱犯人的血样，都能及时检验及时入库，发挥了监狱采血 DNA 检验入库比对为侦查破案服务的作用。

广州市 Y-STR 数据库建设与应用

刘 宏，徐曲毅，刘长晖，李 越

（广东省广州市公安局刑事技术所，510030）

Y-STR 数据库作为 DNA 数据库的拓展应用，其建设与应用在近年得到了充分的应用与空前的重视，其具体的建设与应用模式也有讨论，根据公安部、广东省公安厅的部署，广州市作为全国第一批 Y-STR 数据库建设试点单位，自 2013 年寿光 Y-STR 数据库建设应用试点工作推进会后，开始广州市 Y-STR 数据库建设，迄今已完成 Y-STR 数据 5 万余条，初步建立起了涵盖案件现场物证与高危人群的 Y-STR 数据库，并针对多发性案件侦破中摸索了一套 Y-STR 数据库建设、应用新模式。

广州市作为华南中心城市，Y-STR 数据库建设必须根据我市自身特点进行考虑，首先广州外来流动人口众多，外来人口作为犯罪人群主体，特别是在各类多发性侵财案件中，抓获的人员中 90%以上为外来流动人口，犯罪人群主体户籍地与案发现场地脱离，这就意味着广州市 Y-STR 建设不能仅考虑本地原居住人口家系的建设，更重要的是对活跃在广州的外来职业犯罪团伙群体的采集与建库，另外广州市多发性侵财类案件呈现典型的职业化、地域化倾向，具有明显的"二八现象"，及 20%的职业化犯罪团伙实施了至少 80%的犯罪行为，而地域化团伙中往往存在同一地区具有亲缘关系的团伙成员。结合以上特点，我市确定了 Y-STR 数据库作为常染色体数据库补充，立足本地案件现场物证、地域性多发性案件前科人员资源，兼顾多发性案件与大要案侦破的建库总体思路，下面从 Y-STR 建库数据构成、建库试剂选择、Y-STR 数据库比对与结果研判方法、Y-STR 数据库在多发性案件中的应用与案例等方面，阐述广州市 Y-STR 数据库怎么建、怎么用的问题。

1 Y-STR 数据库数据构成

Y-STR 数据库数据构成即用什么数据进行建库的问题，众所周知，数据库如果能够发挥作用一定要确保有充足、准确的关联数据，为发挥 Y-STR 数据库在日常案件侦破中，特别是在案件基数巨大的多发性案件中发挥作用，广州市在建设 Y-STR 数据库伊始，就确定了立足本地案件现场与活跃犯罪群体数据的宗旨，围绕下列数据类型进行建库。

广州市各类案件，特别是大要案件和多发性案件现场物证 DNA 检验中，排除事主、有效检出单一男性个体成分，或检出可疑男性个体与女性混合成分，但未比中人员的样本 Y-STR 信息。

根据广州市犯罪信息研判，确定在广州市活跃的重点地域、重点犯罪类型违法犯罪人员群体建立人员 Y-STR 数据。

日常工作中检验的男性未知名尸体样本与男性失踪人员直系亲属样本缺失时的父系亲属样本 Y-STR 信息。

依托个案排查，对广州市姓氏聚居区域采集姓氏家系样本 Y-STR 数据。

在广州市的 Y-STR 数据库建设方案中，以案件相关现场生物物证的 Y-STR 建库作为工作重点，人员 Y-STR 建库依托前科人员 DNA 数据库建设任务，根据本地多发犯罪类型、活跃犯罪人群情况加以完成。

2 Y-STR 数据库建库试剂的选择

近年 Y-STR 数据库的应用推动了我国 Y-STR 检测方法与基础研究的发展，各类商品化 Y-STR 检测试剂盒发展很快，建库试剂的选择也日渐丰富。广州市在 Y-STR 数据库建设时根据数据库功能定位、建库数据来源、建库目标、建库规模等方面，从检测核心基因座、数据兼容性与比对效率、检测试剂质量、资金效益等方面进行考虑，选择了基因座数量更多，结合高突变与低突变基因座，应用较为广泛的 Y-filer plus 作为现场物证检测试剂盒，Typer Y29 作为人员样本检测试剂盒，确保本地数据共有基因座数目 24 个，其中高突变基因座数目 4 个。另外，为应对建库数据量的进一步增加，开发更高检测基因座数量的 Y-STR 试剂盒，以提供单次检验获得超过 30 个以上 Y-STR 基因座。

3 Y-STR 数据库比对与结果研判方法

由于 Y-STR 具有随机匹配概率、突变率较高的特点，随着建库规模的扩大，比对目标家系的增加，给 Y-STR 数据库的比对判定带来了很大的困扰，特别是随着 Y-STR 检测基因座的增加，高突变基因座的引入使数据库中各基因座间突变率的差异进一步加大，目前 Y-STR 数据库应用基因座容差来认定或排除父系亲缘关系的判定方法具有较大的局限性，我市通过大家系样本的 Y-STR 数据调查研究与大样本 Y-STR 基因座突变率数据研究，在实践中总结出根据分型差异引进 Y-STR 遗传突变基础数据对比对结果进行量化评分的 Y-STR 数据比对方法，该方法将各 Y-STR 基因座突变率作为基础数据，假设两个样本间存在父系同源关系，通过比较两个样本间差异基因座的突变率与突变步长，用突变率的乘积数值评估两个样本间的总突变概率，从而对样本与数据库内样本进行同一父系亲缘关系量化排序，用总突变概率代替基因座容差数进行父系亲缘关系判定可以充分考虑每一个Y-STR 基因座的突变情况，综合评估高低突变基因座与突变步长对比对结果带来的影响，比简单应用基因座容差进行判定更加科学合理。

4 Y-STR 数据库在多发性案件中的应用与案例

Y-STR 数据比对作为一种非直接定位到人的技术手段，比对结果转化为战果，往往需要确定的比对范围、准确详细的人员家系背景资料以及大量的后期调查研判工作，这也制约了在发案量大、人员背景难以精确掌握的多发性案件中的应用，广州市在 Y-STR 数据库应用实践中，利用 Y-STR 检测男性特有以及亲缘关系比对特点，结合人员活动轨迹、作案特点、案件类别研判等信息，划定 Y-STR 数据库比对范围，在多发性案件中的应用进行了新的尝试。例如，针对近年现场微量接触性检材中出现大量男女混合样本的情况，发挥 Y-STR 作为男性特有检测手段的特点，在现场物证检验中作为常染色体 STR 比对的辅助手段，直接认定犯罪嫌疑人。又如，在 Y-STR 数据库比对应用时结合现场信息比中地域性犯罪团伙人员，缩小案件侦办排查范围。再如，将 Y-STR 数据作为精确串并案件的手段，充实案件侦查线索，促进带动案件侦破与战果扩大。

案例 1：2017 年 6 月某日，广州市市政府一处办公楼发生入室盗窃案件，被盗办公室多间，影响很坏。经现场勘验，在攀爬出入口窗台提取一处擦拭子常染色体检出男女混合 STR 分型，Y-STR 检测得到一名男性 Y-STR 分型，入库比中 2016 年处理的盗窃前科人员王某，经 DNA 数据库常染色体 STR 结果比对，确认混合样本含有王某成分，直接确定犯罪嫌疑人身份。

案例 2：2015 年 7 月某日，广州市花都区发生一宗入室盗窃别墅案，现场提取到案犯遗弃的手套，经检验常染色体 STR 数据入库未比中，Y-STR 数据比中 4~7 月在番禺、南沙区活跃的广西河池籍犯罪团伙成员韦某贵，后对韦某贵关系人扩线分析，发现其同村人员韦某勇案发时一直在花都活

动，从而确定案犯，顺利侦破案件。

案例 3：我市增城通过 DNA 数据库、指纹分别串并 2016 年 12 月至 2017 年 1 月 6 宗撬门窗入室盗窃案，2016 年 5 月至 2017 年 4 月 9 宗撬门窗入室盗窃案，经现场物证 Y-STR 数据将上述两串 15 宗案件串并，经比对 Y-STR 数据库比对在增城被处理过的撬门窗入室盗窃前科人员，比中贵州印江籍何某浪，进一步缩小范围，经对贵州印江籍何姓人员进行精确研判，迅速锁定犯罪团伙。

综上所述，广州市作为犯罪人口大量输入的中心城市，Y-STR 数据库的建设难以采用依托本地人口家系数据资源，精确比对的模式，同时为了更好地服务于本地多发性案件的侦破，在此背景下，广州市 Y-STR 数据库确定了作为常染色体数据库补充，立足本地案件现场物证、前科人员资源，用建结合，边用边建，探索适合自身特点的 Y-STR 数据库建库模式。

【参考文献】

[1] 葛建业，严江伟，谢群. 中国 Y-STR 数据库建设相关问题探讨［J］. 法医学杂志，2013，29（3）：212-215.
[2] 刘宏，金国文，杨幸怡，等. 三个姓氏聚居村家系 Y-STR 单倍型分析［J］. 刑事技术，2015，40（6）：450-456.
[3] 翁玮霞，刘宏，刘超，等. 17 个 Y-STR 基因座在广东汉族人群中的单倍型频率及突变率［J］. 南方医科大学学报，2013，33（3）：412-415.
[4] 孙凯臻，彭珊，刘超，等. 广东汉族群体 24 个 Y-STR 基因座的多态性及突变率［J］. 中国法医学杂志，2014，29（6）：514-518.

深圳市公安局利用 DNA 技术开展打拐工作的初步探讨

洪　丽，王传海
（广东省深圳市公安局刑警支队，518040）

近年来，打拐工作日益受到社会各界的关注，部分全国政协委员、人大代表也就该问题提出了很多意见和建议，在社会上引起了强烈反响。本文从目前打拐工作中存在的问题和成功经验两个方面探讨 DNA 技术在打拐工作中的应用。

1 存在问题

自 2009 年公安部开展打拐专项行动以来，全国公安部门在打击拐卖妇女儿童犯罪工作中取得了很大的成绩，但通过全国公安机关查找被拐卖/失踪儿童 DNA 数据库（以下简称“打拐库”）比中的案件在失踪案件中所占的比例仍然很低，究其原因，主要有以下几个方面：

1.1 民众法律意识不强、公安部门打击力度不够

拐卖儿童的犯罪行为之所以屡禁不止，有相当一部分原因源自庞大的市场需求和高额的经济利益，又因为法律的“仁慈”，低廉的违法成本使得很多买方没有意识到自己的行为是犯罪。“买方入刑”在我国《刑法修正案（八）》中虽然一直存在，但往往在实际案例中实施很少。2015 年 9 月 29 日，全国人大常委会表决通过了《刑法修正案（九）》，对拐卖妇女儿童条款作了较大修改，将不阻碍解救儿童的改为“可以从轻处罚”，将不阻碍被买妇女返回居住地的改为“可以从轻或减轻处罚”，也就是说，收买被拐妇女儿童的行为一律追究刑事责任，不能免除处罚，对于买方行为具有震慑作用，从长远来看可以减少需求，从源头上减少拐卖妇女儿童的发生。

1.2 普通群众尚不了解 DNA 技术在打拐工作中的应用情况

DNA 打拐，即公安机关利用“打拐库”来打击拐卖儿童犯罪，帮助被拐儿童找回失散亲人，是

近几年兴起的快速找寻被拐儿童的有效方法，是 DNA 技术在打拐工作中的有效应用。“打拐库”将大量样本的信息特别是 DNA 分型数据信息存放在一个计算机信息库中，实现了 DNA 信息的自动检索碰撞，警方可以异地查询，网上比对，能够快速高效地查找被拐卖儿童。与传统找寻被拐儿童方法呈现出的准确度不高、效率低等弱点相比，作为 DNA 检验技术与打击拐卖儿童行为相结合的产物，“打拐库”的建立和运用，使打拐工作建立在了科学分析、研判的基础上，对及时确认被拐儿童身份发挥了决定性作用。近几年，通过各种报刊媒体的宣传，民众开始接触了解 DNA 打拐这一先进途径，但对于具体要求以及去何部门求助采血仍不清楚，需要公安机关进一步加强宣传。

1.3 基层办案民警缺乏相关知识和培训

基层民警是接触失踪人员亲属的一线人员，涉拐类案件虽多，但在全国范围内又相对分散，基层民警在办案中遇到此类案件的情况还相对较少，加上有些地区的打拐部门并没有及时对基层进行必要的培训，使基层民警在处理涉拐类案件时不了解相关规范、要求，不清楚公安机关在此类案件中的任务职责，导致采血不及时、采集对象遗漏，从而错过录入数据库比对的机会。

2 成功经验

自 2009 年“打拐库”建立以来，深圳市公安局充分利用 DNA 数据库大数据优势，联合打拐办开展一系列专项行动，利用先进的 DNA 检验技术和“打拐库”的快速比对，大大增加了比对范围和比中概率，直接为侦查提供有效线索，使一些旧案、积案在没有其他线索的情况下得以最终侦破，帮助众多失散儿童家庭重拾团圆梦。

主要经验如下：

2.1 制定管理规范，加强基层培训

为进一步推进全市公安机关打拐工作，充分发挥“打拐库”在查找失踪、被拐儿童中的重要作用，根据《中华人民共和国刑事诉讼法》、《公安机关办理刑事案件程序规定》《公安机关查找被拐卖儿童 DNA 检验技术应用规范（试行）》、《全国公安机关来历不明儿童集中摸排行动方案》等要求，结合我市打拐工作实际，2014 年 9 月，深圳市公安局率先制定了《深圳市公安局打拐工作 DNA 血样等生物检材采集、录入、送检、鉴定工作规范（试行）》（以下简称《规范》），对 DNA 检验技术应用于打拐工作的采集对象、任务职责、工作程序、样本采集、录入要求、样本和资料管理、监督和追责等作出了详细规定。

同时，由刑警支队打拐办牵头对各分局刑警大队打拐工作人员进行一系列培训，建立专职打拐联络员制度，确保《规范》在基层工作中的普及落实。

2.2 充分利用媒介，加强媒体宣传

理论上，只要父母和儿童的 DNA 数据都在“打拐库”中，就没有比不中的情况。现代社会信息的快速传播为我们创造了绝好的宣传条件，通过多种电视媒体、微信公众号、微博以及传统报纸杂志等媒介积极向群众宣传普及 DNA 技术和“打拐库”在寻亲中发挥的重要作用，使被拐儿童父母和那些年幼被拐的成人及时了解到这一途径，鼓励他们主动就近去公安机关采血入库比对。

2.3 加强规范采血，有效录入“两库”

2.3.1 专职民警负责，同打拐办联系紧密，沟通反馈及时

为方便沟通、规范采血，我局 DNA 实验室安排 1 名专职民警负责打拐及亲缘鉴定工作，建立专门的打拐案件 DNA 比对通报微信群，同打拐办实现了直接对接，方便其随时了解案件检验进度及比中情况，在采集血样前进行专业沟通还可以确保人员血样采集正确、信息填写完整。

2.3.2 随到随检，保证检验效率

所有涉拐案件检验做到随到随检，为涉拐案件开通绿色通道，确保一周出结果，大大提高比对效

率，同时 DNA 实验室积极配合打拐办认亲宣传活动，加大宣传力度，遇有高度疑似案件或新闻媒体关注的敏感案件及时检验，以最快的速度确认或排除亲缘关系，使打拐办掌握话语主动权。

2.3.3 DNA 数据录入“两库”，比对更全面

所有涉拐案件均同时录入“打拐库”及“全国 DNA 数据库”失踪人员（亲属）子库，仔细甄别，不放过一丝线索，经初步筛查后发现疑似对象即联系打拐办采血复核。

将失踪人员和寻亲亲属 DNA 信息在录入“打拐库”的同时录入“全国 DNA 数据库”的优势在于：这些 DNA 数据还可以同“全国 DNA 数据库”中的前科人员子库以及未知名尸体子库进行比对，扩大比对范围、增加比中概率，同时也可以解决一些未知名尸体尸源认定的问题。仅 2016 年通过“全国 DNA 数据库”盲比中的打拐案件就有 7 宗，比中的“儿童”多为前科人员或因清查等其他原因被派出所采集过 DNA 信息的人员。

2.3.4 增加试剂盒种类，单亲及全同胞案件鉴定更为严谨

在以往双亲亲缘关系鉴定基础上，增加常染色体试剂盒种类，使单亲案件检验 STR 位点数增加至 40 个；并且增加 Y 染色体试剂盒检验，可及时确认或排除同一父系男性个体。

经过两年多时间的检验，我们认为这套方法在实践中行之有效，打拐战绩硕果累累，2015 年比中打拐案件 27 宗，2016 年比中打拐案件 42 宗，在全国同类城市中排名首位！许多案例被中央电视台《等着我》栏目采纳，经多家媒体报道，在社会上引起强烈反响，取得了非常好的社会效益。2016 年 9 月 13 日，公安部打拐办、央视联合在我局在深圳举办了《回家之路》中秋认亲晚会，现场 5 组家庭寻亲的故事和认亲的场面催人泪下，感人至深。深圳打拐工作取得的成绩，受到了公安部和省厅打拐办的一致认可，被评为“全国打拐先进单位”，许多经验做法多次在全国会议上进行推广。

【参考文献】

[1] 李刚.“国家寻亲平台”：是纽带，更是希望 [N]. 人民公安报，2013-06-24（5）.
[2] 胡洁人. DNA 打拐，圆宝贝回家梦 [J]. 检察风云，2014（11）：67-68.

强奸案件检验鉴定人出庭的应答及思考

李　烨，张燊伟，周纪策
（广东省江门市公安局刑警支队，529000）

1 前言

《刑事诉讼法》于 2012 年 3 月 14 日进行修正，2013 年 1 月 1 日正式实施。新《刑事诉讼法》对证据制度、辩护制度、审判程序等方面进行了全面完善，其中第 187 条、第 192 条就鉴定人和有专门知识的人出庭提出具体要求。鉴定意见作为证据只有经当庭出示、质证等法庭调查程序查证属实，才能作为定案的根据。笔者在 2016 年参与了一起强奸案件检验鉴定出庭作证的工作，在此与大家共同探讨出庭作证的程序和需要注意的事项等。

2 案情简介

2014 年下半年本市某区发生多起强制猥亵女孩案件，2014 年 11 月 18 日，在本市某区睦洲镇何某（女，14 岁）放学后被一蒙面人猥亵。11 月 19 日何某家属报案，当地公安局法医提取何某乳头拭子，当时有女法医在场，并制作现场提取笔录。11 月 20 日送检材到市局 DNA 室检验。经

过三次检验检出一男性基因型，经录入 DNA 数据库比中一有 2013 年犯罪前科的建库人员杨某某（男，27 岁）。11 月 27 日新会分局接到 DNA 鉴定人员电话比中通知，于当日抓获杨某某。12 月 2 日进行复核检验，结果一致。因本案侦查、检验鉴定方面的程序问题，法院要求鉴定人出庭接受质询。

3 出庭过程

对方辩护律师以及公诉人针对以下几个问题进行质询，鉴定人进行了相应的解释。具体问题如下：

辩护人（原江门市法院书记员）首先发问：检验过程是否按照 2008 年《公安机关鉴定规则》检验？答：是。

问：《公安机关鉴定规则》规定检验期限 7 天，第一份鉴定书是 2014 年 11 月 20 日送检，出具鉴定书是 12 月 5 日，超过规定时限，如何解释？答：《公安机关鉴定规则》第 34 条：鉴定机构应当在受理鉴定委托之日起七日内作出鉴定意见，出具鉴定书。但是法律法规、技术规程另有规定，或者侦查破案、诉讼活动有特别需要的，鉴定机构可以与委托鉴定单位另行约定鉴定时限。我们同时参考 2007 年《司法鉴定程序通则（试行）》第 26 条和 2016 年《司法鉴定程序通则》第 28 条之规定：司法鉴定机构应当与委托人签订协议书之日起三十个工作日内完成委托事项的鉴定。综上，我鉴定机构采用三十个工作日。

问：前一天提取检材会不会对检验结果有影响。答：保存好不会影响。

问：是否将 DNA 数据库比中结果通知给办案部门，以何种方式？结果通知给谁有无规定可以告诉报案警方。答：因案情重大，应委托方要求，电话通知给对方，只是作为线索提供给对方，不作为法律行为。

问：DNA 检验过程。答：提取、扩增、电泳、分析、录库比对。问：检验结果最快时间。答：具体检材。

问：提取检材时是否有女性工作人员参与。答：按《刑事诉讼法》第 130 条规定：检查妇女的身体，应当由女工作人员或者医师进行规定，应当符合规定，具体情况要问办案单位。

问：你室于 2014 年 12 月 5 日和 8 日出具的两份鉴定书分别是否在同一地点检验？答：是。

问：嫌疑人于 2014 年 11 月 27 日抓获，乳头拭子的检验鉴定书于 12 月 5 日出具，会不会有污染。答：乳头拭子的结果是 2014 年 11 月 25 日检出，录库比中嫌疑人，鉴定书出具需要一定时间，两份检材检验时间不同。

公诉人接着发问

问：是否第一时间将比对结果通知新会警方？答：检出结果后，两日后通知。

问：乳头拭子，是否嫌疑人检材多过事主才能检出。答：根据优势扩增的原理，DNA 含量比例差异到一定程度，只显示一个人的 DNA 分型。

问：唾液 DNA 成分。答：含有口腔上皮细胞。

4 讨论

新的《刑事诉讼法》要求鉴定意见作为一种独立的言词证据，应当接受控辩双方或当事人的发问，经查证属实后，方能作为定案根据。

4.1 鉴定人出庭作证相关法条

《刑事诉讼法》第 187 条规定：公诉人、当事人或者辩护人、诉讼代理人对鉴定意见有异议，人民法院认为鉴定人有必要出庭的，鉴定人应当出庭作证。经人民法院通知，鉴定人拒不出庭作证的，鉴定意见不得作为定案的根据。

对无正当理由拒不出庭作证，追究鉴定人和鉴定机构代表人的责任，给予停止从事司法鉴定业务三个月以上一年以下的处罚；情节严重的，撤销登记。

本案是江门市公安司法鉴定中心 DNA 实验室成立以来，鉴定人员第一次出庭作证。

4.2 出庭质证鉴定意见需要审查的内容

4.2.1 鉴定人和鉴定机构是否具有法定资质

本案中法院查看了鉴定人资格证书原件、职称证书原件和鉴定机构实验室实验室认可的证明。

4.2.2 鉴定人是否存在应当回避的情形

本案中法院法官口头询问鉴定人是否有回避情况。

4.2.3 检材是否充足可靠，检材的取得及其保管、送检等是否符合法律和相关规定

本案中法院法官和对方辩护人均对检材的提取、送检、检验程序进行提问。

4.2.4 鉴定意见的形式要件是否完备

本案中对方辩护人对检验日期，鉴定文书出具时限的程序进行提问。

4.2.5 鉴定程序是否符合法律、有关规定，鉴定人是否遵守职业道德和职业纪律

本案中法院法官要求鉴定人员对鉴定的独立性、客观性进行宣誓。

4.2.6 鉴定的过程和方法是否符合相关专业的规范要求

本案中鉴定人的鉴定程序成为辩论的焦点。

4.2.7 鉴定意见与案件待证事实有无关联

若经审查鉴定意见与案件待证事实之间并无关联，则该鉴定意见不具有证明价值，应当予以排除。

4.2.8 鉴定意见与勘验、检查笔录及相关照片等其他证据是否矛盾

本案中对方辩护律师对现场提取笔录形成的时间、现场提取人员，以及侦查员的讯问犯罪嫌疑人的时间段提出了质疑，侦查人员对疏漏进行了补正。

4.3 鉴定人出庭应具备答辩能力和技巧

鉴定人出庭应具备的答辩能力和技巧，充分准备答辩材料，了解出庭常涉及的具体问题，用事实和相关的法律法规、鉴定标准和公开发表的参考资料，证实自己的鉴定意见正确。回答质疑时，语言要简洁明了；对鉴定无关的内容不予回答，充分利用反对权。

4.4 鉴定人出庭应具备的心理素质和资料储备

4.4.1 心理准备

将原鉴定档案材料调出，熟悉相关资料。要做到对原案件中所涉及的鉴定技术及工作职责内的问题明确。了解案件当事人及其代理人对鉴定提出的争议焦点。

本案中出庭前与检察院、法院充分沟通，了解可能提出的问题，但出庭作证时，还是有一些问题超出了准备，及时进行了回答。本案中出庭之前和实验室同事和出过庭的人员进行交流，了解出庭程序、问题、重点和注意事项。

4.4.2 出庭资料储备

了解《中华人民共和国刑事诉讼法》《中华人民共和国公安部刑事技术鉴定规则》《关于办理刑事案件排除非法证据若干问题的规定》《法庭科学 DNA 实验室检验规范 GA/T 383-2002》《法医学物证检材的提取、保存与送检 GA/T 169-1997》《法庭科学 DNA 检验鉴定文书内容及格式GA/T 1161-2014》《公安机关鉴定人登记管理办法》等法律法规、国标行标。还要准备鉴定人身份证、鉴定人资格证、专业技术职称证书。

鉴定人能否顺利完成出庭接受质询任务，关系到鉴定意见能否被采纳，关系到检察机关指控犯罪成功与否。所以鉴定人应该重视出庭作证的程序和相关的知识储备。

DNA 技术在合成作战中侦破盗抢案件的应用体会

梁耀荣
（广西壮族自治区梧州市公安局，543000）

随着全国 DNA 数据库建设工作的不断完善，库容不断提升，DNA 数据库破案的效果越发明显，大量的积案、疑难案件和现发大要案见通过全国公安机关 DNA 数据库得以侦破。但是，随着犯罪分子反侦查意识的提升，直接运用 DNA 技术直接破获案件的难度不断加大，尤其在打击盗抢类案件中。自从公安部提出合成战以后，多技术手段合成侦办案件已成为我市公安工作的打击新模式，尤其在侦办盗抢类案件中多技术手段合成显得尤为关键和有效。作者通过近几年的工作实践，总结本地利用多技术手段提升 DNA 数据库侦破盗抢案件效能的几起典型案例，仅供同行参考。

1 案例类型

1.1 巧用视侦等新技术手段，精确指导中心现场勘查和物证提取

案例 1：2013 年 4 月 29 日广西梧州市长洲区某政府办公室被撬盗，被盗数台笔记本电脑。技术员勘查现场时发现办公室内安装有监控视频，技术员迅速查看了现场视频，发现了嫌疑人作案过程中曾在现场有吃苹果和喝牛奶的过程。经现场勘查，逐一提取了吃剩下的苹果和牛奶盒子吸管等物证。经 DNA 检验检出一男性 DNA 基因型，入库比对中一名本地的前科人员李某坤，使案件迅速告破。

1.2 运用多技术手段，重视外围现场勘查和物证检验

案例 2：2016 年 4 月 25 日梧州市辖区岑溪岑城镇某私宅被人攀爬入室盗窃，损失价值一万余元。侦查部门运用视侦手段发现案发时段两名可疑男子行迹极其可疑，并展开了追踪。经天网视频追踪发现两男子当天凌晨离开现场方向后曾在一处小广场有短时间停留并有抽烟行为。视频倒追，追踪到了两名男子曾在县城一宾馆有住宿登记。根据以上信息，侦查部门迅速组织技术人员对小广场抽烟地点进行了仔细勘查，提取到了 3 枚可疑烟蒂。在该两男子住宿的房间内提取了烟灰缸内烟蒂、矿泉水瓶等物证。经 DNA 检验，提取的物证分别检出了两名男性 DNA 基因型。经全国 DNA 数据库比对，直接比中违法人员库内的岑溪籍男子洪某起和海南籍男子吉某命。比中信息迅速报送合成作战指挥中心，经技术侦控部门协助，侦查部门迅速抓获了仍在逃窜途中的两名犯罪嫌疑人员，并起获了赃物，使案件在 48h 内迅速得以侦破。

1.3 多技术手段合成破案，充分发挥 DNA 技术的证据价值

案例 3：2012 年 10 月和 2013 年 2 月在梧州市万秀区的临街店铺各发生被一起被人撬门入室盗窃的案件。侦破过程中发现两起案件中现场均安装有视频监控装置，通过视侦能分析其作案手法、过程、犯罪嫌疑人体态特征等信息，但因案发时段为深夜，无法获得清晰的人像信息可供人像比对。经结合视频信息，现场勘查中分别在收银机和玻璃门上各发现一处可疑血迹，后经 DNA 检验检出一男性 DNA 并数据库比中李某平，最终在“零口供”的情况下，办案单位通过综合运用 DNA 鉴定结果和起获赃物等手段最终将犯罪嫌疑人依法呈检察院批捕起诉。

1.4 DNA 技术串并案件，多技术手段齐发力侦破案件

案例 4：2012 年以来，梧州市龙圩辖区接连发生多起针对小区住宅、商品房的入室盗窃案件，盗窃区域遍布龙圩城区各片区，范围广，案发时段均是夜间，案发地点大部分缺少天网监控，增大了破

案难度。在侦办过程中，DNA 实验室陆续发出比中通报：自 2012 年 6 月至 2016 年 8 月，DNA 实验室陆续在现场物证检验中检出同一男性基因型，据此提供了串并 6 起案件可串并的依据，但经全国公安机关 DNA 数据库比对未能比中人员信息。随后，市局通过 DNA、足迹、作案手法等手段串并类似案件 18 起。直至 2017 年 1 月 24 日龙圩辖区再次发生类似手段的入室盗窃案件，技术人员在现场勘查中提取到现场遗留的指纹，指纹技术人员通过翻查手工采集的指纹卡进行比对时才发现了一个 1997 年抓获的周某祥的吸毒人员指纹与该起现场提取的指纹高度相似。2017 年 2 月龙圩区某个小区又发生了 2 起入室盗窃案，DNA 检验再次对中了前面 6 起 DNA 比对中的基因型，视侦人员通过视频确认了该小区 2 起入室盗窃案件的犯罪嫌疑人为指纹排查可疑人员周某祥，经对犯罪嫌疑人逃跑轨迹进行追踪，最终抓获了周某祥。经过汇总此系列案件分析，周某祥为梧州市区人，1997 年因盗窃被判刑，有吸毒前科，2007 年刑满释放后未被公安机关打击处理过，所以 DNA 数据库一直没有此人信息。

2 讨论总结

2.1 DNA 检验在侦破盗抢类案件中遇到的问题

2.1.1 生物检材的提取率不高

盗窃、抢夺、抢劫等类型案件中，案犯的反侦查意识不断增强，盗抢类案件中现场勘查中经常发现不了、提取不到现场生物物证，直接降低了 DNA 检验对此类案件的侦破能力。

2.1.2 现场物证的检出率不高

盗抢类案件中往往较难发现常规生物物证，提取到的多是一些触摸甚至是可能触摸过的极其微量的痕迹物证，此类型物证的检验成功率较低一定程度局限了盗抢案件中的 DNA 检验工作的侦破能力。

2.1.3 本地 DNA 数据库违法人员库容不大导致比中率不高

2013 年至今，梧州本地公安机关正式开始建违法犯罪人员库，本地库容量正逐年增加，但是目前库容量与当地人口数量的比值依然较小，库容数量也仅数万，这一现状直接影响了 DNA 技术在直接侦破案件中的应有作用。

2.2 如何提升盗抢案件中 DNA 技术的打击能力

2.2.1 提高本地实验室 DNA 检验水平，加强 DNA 数据库建设工作

由于盗抢案件中现场勘查提取的大部分都是接触类的极其微量的生物物证，要求实验室从检验方法、人员培训等方面都不断地提高检验水平。同时，盗抢案件中作案的人员大部分都是有犯罪前科的，甚至是多次被公安机关打击处理的，因此要求不断推进当地 DNA 违法人员库的建设工作。同时，实验室在检验日常的盗抢案件中，也应该扎实做好检出物证的基因型入库工作，有利于在盗抢案件中更好地发挥 DNA 技术串并的作用。

2.2.2 综合运用各种技术手段，提升发现生物物证的能力

目前，DNA 技术的检出越来越灵敏。任何刑事案件现场生物检材的发现、提取是 DNA 技术发挥作用的首要前提。现场勘查中，技术员和侦查员要求熟悉各类技术手段，包括视频和技术侦查等手段，进而综合运用各种新技术手段提高现场勘查发现痕迹物证的能力。

2.2.3 充分发挥各类技术的优势和特点，发挥各类技术的最大价值

在不少的实际案例实践中，任何一种技术手段都有其局限性，如视侦技术往往不能进行个体识别。综合利用各种技术手段的优势，发挥合成作战的最大价值，才更有利于侦破各类案件。同时，在犯罪分子反侦查意识不断提升，在“以审判为中心”的法律要求下，工作实践中顺利批捕起诉是当前公安工作中的实际要求。因此，发挥各种技术手段的自身特点，充分挖掘盗抢案件中每一件物证的证据价值，才能使案件办成“铁案”。

2.2.4 不断总结合成作战协作机制，形成成熟的技战法服务实战

在新形势下，综合运用传统的刑事技术和刑侦、技侦、视侦、网侦等手段“同步上岸”已成为合成作战的协作新机制。目前视侦技术实战中不断地形成了各类技战法，并在全国推广应用。刑事科学技术包括 DNA 技术如何与其他技术逐步形成各类技战法也需要在不同的案例中不断地提炼和总结。

综上所述，全国公安机关不断深入推进严厉打击盗抢骗犯罪工作，DNA 技术和 DNA 数据库应用在侦破盗抢类刑事案件中应进一步融入其他技术手段中，在合成作战中充分发挥好 DNA 技术和数据库的自身优势，提升破案能力和发挥应有的证据价值。

玉林市 DNA 数据库建设与应用

梁　燕，周金媛，梁彩萍，钟如松

（广西壮族自治区玉林市公安局刑侦支队，537000）

多年来，玉林市公安局 DNA 实验室利用 DNA 检验技术与全国公安机关 DNA 数据库这两大利器，立足侦查破案主战场，充分发挥刑事科学技术的职能作用，积极服务于各侦查职能部门，为命案侦破、打黑除恶、打击“两抢一盗”等各项破案专项行动提供了坚实的科技支撑，取得了显著的成绩，尤其是在侦破重特大、疑难案件中成绩显著、屡建奇功。

1　玉林市 DNA 数据库建设的基础保障

1.1　人员保障

玉林市公安局 DNA 实验室成立于 2002 年，承担玉林市全市刑事案件的生物物证检验，违法犯罪人员建库及疑难案件的现场勘查工作。截至目前共有检验人员 13 人，其中正式民警 8 人，辅助人员 5 人。这 13 名检验人员中双学士 1 人，本科 7 人，大专 5 人。

1.2　物质保障

为深入贯彻落实《全国公安机关 2009—2013 年 DNA 数据库建设规划》推动玉林市公安局 DNA 实验室规范化、现代化建设，在各级领导与财政部门的大力支持于 2012 年开工建设刑事技术大楼并于 2016 年 9 月交付使用。DNA 实验室按照洁净度 10 万级以上的标准装修，实验用房达到 850㎡，分为三大检验区域：常规案件检验区、微量案件检验区、违法犯罪人员入库检验区。这三个检验区域均有提取室、加样室、扩增室、电泳室、数据分析室。主要仪器设备有 3500XL、3130 遗传分析仪、9700A PCR 扩增仪、Abveriti PCR 扩增仪、proflex PCR 扩增仪、EZ1 核酸纯化仪及相关配套设备。每年 DNA 实验室试剂经费实施随用随报，无限额控制。

2　玉林市 DNA 数据库建设的具体情况

2.1　规范化管理，规范化建设

随着检验检测机构资质认定工作的推广及 DNA 实验室检验队伍的不断壮大如何规范管理实验室成了实验室日益迫切需要。一方面，以《全国公安机关 2009—2013 年 DNA 数据库建设规划》为依托；另一方面，借鉴上级单位及其他先进兄弟单位作法，结合实验室的实际在工作中不断摸索，制定并发布执行《DNA 实验室负责人岗位职责》《DNA 实验室检验人员岗位职责》《DNA 实验室日常规范管理制度》《DNA 实验室物证管理制度》等一系列 DNA 实验室的管理制度，建立了实验室的操作

规程、消毒规程、物证保管规程等。2013 年玉林市 DNA 实验室评为公安部二级实验室。2016 年实验室启动省级检验检测机构资质认定工作并于当年顺利通过省级资质认定。

2.2　强化人员的培训

人才是 DNA 检验的生命力。为了让 DNA 实验室健康发展，针对不同的工作人员制订了个性化的长、短期培训计划，实施人才培养战略方针，促使玉林 DNA 实验室的检验技术取得长足的进步。每年每位 DNA 工作人员至少要达到专业培训学时 96 学时（每学时为 1h）。正是检验人员的过硬专业技术，2008 年以来玉林市 DNA 实验室每年参加公安部、国家认可委组织的实验室能力验证均获得“满意”好成绩。

3　玉林市 DNA 数据库建设的成效

3.1　以命案为重点，服务侦查破案

“命案必破”既是公安工作的要求，也是玉林市 DNA 实验室检验技术的追求。为保证命案必破，提高物证的检出率，凡是疑难命案，DNA 检验员必是首次勘查的工作人员之一，现场的物证必须由检验员提取。正是有了玉林市 DNA 实验室这支善打硬战的队伍，玉林的疑难命案基本上通过 DNA 技术全破。如 2008 年 10 月 1 日北流市谢某志被死案、2009 年 3 月 12 日北流市圭某杀人碎尸案、2010 年 5 月 26 日玉州区辛某强被杀案、2013 年 8 月 8 日博白县三轮车司机被杀案、2015 年 1 月 28 日兴业县杀害小学生案、2016 年 11 月 3 日玉州区杀害卖淫女案。

玉林市 DNA 实验室不仅仅利用检验技术提高物证的检出率认定凶手，还充分发挥全国公安机关 DNA 数据库的大数据处理优势提高破案率。

2010 年 1 月 23 日玉州区卖淫女兰某被杀，经检验死者的左乳头擦拭物、左手指甲、死者脖子上提取的围巾吸取物、死者的嘴唇擦拭物检出一男性 STY 分型。经多方侦查未获知凶手。2011 年 8 月通过全国公安机关 DNA 数据库比中桂林市违法犯罪人员梁某璇。

2014 年 9 月玉林市 DNA 实验室开始检验、录入 2014 年度违法犯罪人员 DNA 数据。9 月 29 日经比对发现玉林市在押吸毒人员陈某友 DNA 与 2005 年 4 月 7 日南宁市五通庙出租车司机何某被杀案现场检材“出租车左后排前踏板上血痕”一致。9 月 30 日再次抽取陈某友血样进行复核，结果均一致。历时 9 年多，南宁市五通庙出租车司机何某被杀案破获。

2010 年 7 月 2 日玉州区谭某中在家中被抢劫杀害，2014 年 1 月，通过全国公安机关 DNA 数据库死者谭某中左手指甲擦拭物、捆绑双手带子擦拭物与 2013 年 11 月 18 日四川新都区三河无名男尸比中。

2016 年 2 月 6 日历时二年零五个月经 DNA 实验室工作人员坚持不懈的 DNA 检验技术支持及全国公安机关 DNA 数据库，博白县 2013 年 9 月 15 日故意杀人案破获比中广东省深圳市违法犯罪人员冯某华。

3.2　深挖 DNA 信息潜力，多破小案

玉林市 DNA 实验室不仅破大案、要案，而且时刻以维护人民群众生命财产安全，确保社会治安大局持续稳定，不断增强人民群众的安全感和满意度为己任，充分发挥 DNA 技术优势多破小案。每年利用 DNA 技术均认定一批入室盗窃案及串并一批入室盗窃案。

2017 年第一季度玉林市 DNA 实验室就串并入室盗窃案件 8 串共 30 起案件，认定犯罪嫌疑人 10 人；比中盗抢案件个案 7 起，认定犯罪嫌疑人 9 人。

4　玉林市 DNA 数据库建设的展望

玉林市 DNA 数据库已进入高速增长期，如何规范、有效运用它的大数据将关系到玉林市 DNA 实验室将来可持续发展。

4.1 **持续规范化建设 DNA 数据库**

利用资质认定的契机，依据《公安机关鉴定规则》及 DNA 检验技术的国标、行标规范 DNA 检验的全过程，科学管理、应用 DNA 数据库，推动玉林市 DNA 数据库的规范化建设。

4.2 **持续人才培养计划**

坚持以培养人才为基础，不断保持玉林市 DNA 实验室的可持续发展，避免出现人才断层现象。

4.3 **拓宽拓深 DNA 数据库的应用**

在大数据时代，各系统数据的共享、整合成为公安工作迫切需要解决的重要问题。如何利用 DNA 数据库、现勘系统、指纹系统等进行整合分析研判，并刻画出犯罪嫌疑人的活动轨迹，指导侦查破案成为未来 DNA 数据库的走向。

重庆市公安局 DNA 实验室管理系统建设与应用思考

喻永敏，王清山

（重庆市公安局物证鉴定中心，400000）

为有效应对新时期犯罪新形势新变化，创建更高水平的打击犯罪新机制，公安机关面临依托指纹系统、足迹系统、DNA 系统、现勘系统、刑专系统等创建公安机关社会管理、“网上作战”等新的工作机制。按照公安部以及市局的统一要求部署，重庆市公安局的 DNA 检验鉴定工作从原来的单一实验室向二级实验室管理模式转变，DNA 作用规模从原来的同案认定发展到以重点人员大量建库打击犯罪、多库串并研判为目的。为了实现与各系统，特别是与国家库金盾二期、现勘系统、刑专系统的有效对接，实现实验室的规范化管理，重庆市公安局一直在探索 DNA 实验室管理系统的升级改造之路，打造一个能满足大数据云比对要求的综合性多功能日常工作业务系统。现将 DNA 实验室管理系统建设与应用的体会与同行们分享。

1 建设目标

根据全国公安机关 DNA 数据库二期项目的要求，结合当前重庆大数据结构，在原有二级架构（市局—区县）设计基础上重新设计合理的系统模型、数据结构模型、DNA 比对模型，由原来单一模式实现集群架构，真正支持大数据云比对要求。

一是在原有 DNA 系统数据库基础上扩容至 500 万，配套设计与 500 万库容相当的系统架构、数据结构和给出相应的硬件需求，达到一般数据查询相应时间<8s，复杂数据统计相应时间<30s。

二是重新设计数据比对算法，新比对模式剥离出主服务器，由单独比对引擎模式工作，单比对引擎比对速度由原 30 万/s 提升至 200 万/s（容差 1 对情况下）。比对模式支持（同型、父母、配偶-子女、单亲、混合、Y-STR、相似度）等多种模式，比对引擎支持集群模式，可以堆叠。

三是增加 Y-STR（父系遗传）子系统，根据重庆实际合理规划建立建设一套完善的 Y-STR 家系信息化数据库，把目前零散的 Y 数据与以案养库相结合，提供侦破线索。

四是注重数据安全，增加容灾备份功能，能够实时异地备份系统数据（延迟<3min）。

五是完善与各其他刑侦业务系统间的接口功能定义，根据公安部 DNA 软件数据库格式制定标准的输入输出接口，实现与现勘系统、刑专系统等系统相对应。

六是规范 DNA 检验鉴定流程，增加 DNA 专家辅助子系统，实现 DNA 刑事技术工作的规范化、智能化、便捷化、系统化，提高案件受理、鉴定的工作效率。

2 具体措施

2.1 **以“人机料法环溯”为抓手，规范 DNA 检验鉴定流程**

重庆市公安局 DNA 实验室经历了多次中国合格评定国家认可委员会的认可评审和公安部组织的资质认定，已经建立起较为成熟的符合国际标准的质量管理体系，但实际还处于低位运行的现状。随着法制化进程的加速，DNA 实验室开展等级评定、资质认定和实验室认可工作是大势所趋，是确保检验鉴定质量的重要手段。实验室在坚持人员培训、质量监督、内审、管理评审、纠正措施、预防措施等一系列管理措施的基础上，将“人机料法环溯”的实验室管理认可理念贯穿到 DNA 实验室管理系统。从案件委托开始，就对每一案件的现勘号、接警号进行记录，对物证的物证袋进行唯一性编码，在案件受理环节，对物证袋编码进行扫描验证。案件受理后，DNA 提取、扩增、检测等试验环环紧扣，所用设备、试剂、方法实时记录与保存，基因分型导入、数据比对、分析后，按照实时记录自动生成检验记录。并详细记载了用户登录、查询、比对、比中结果、仪器设备、试剂耗材、检验方法、实验室环境等使用日志，可以按查询条件进行查询统计工作。系统设计时，充分考虑各种实际情况，在关键节点设置通行路径，确保了检验人员按流程检验的目的。

2.2 **加强本省库管理，创新数据串比模式**

按照全国公安机关 DNA 数据库二期设计构架，重庆市各区按地级市要求部署，各实验室数据可以实现在全省 MIS 数据库的传输与 DIS 库的比对，但达不到上报要求而未上报数据的比对存在遗漏的可能性。为了加强全市数据的管理与应用，DNA 实验室管理系统将全市各实验室数据进行共享，以自动比对的模式将全部数据进行自动加载比对，同时改变原有的“一一”比中模式，创新应用比中串模式，大大提高了比中数据的处理能力。总队 DNA 实验室改变工作机制，成立了专门的数据管理组，采取集中处理数据串在分发各相关实验室。各区实验室可以在系统内进行本地服务器手工比对，亦可进行全省数据手工比对，大大提高了全省 DNA 数据的使用效率。

2.3 **多系统有效融合，建设刑侦信息化综合平台**

DNA 实验室管理系统支持大库容数据模型，结合全国公安机关 DNA 数据库二期数据架构，实现样品、对象、基因分型、基因图谱、检测实例等复杂关系型数据分布更合理，建立相关物化视图。重新设计接口方案，设计标准的输入输出参数与 DNA 国家库、现勘系统、警综系统、案事件平台、综合受理等系统综合解决方案。通过 DNA 信息整合过滤，实现案件、人、物证、尸体、比中信息、样品检验过程为最小单位的信息输入输出接口，真正实现大情报时代对 DNA 数据库接口的各类复杂情况综合解决方案。

2.4 **突出应用特色，实现多种比对模式**

随着 DNA 应用技战法的不断探索与增多，为了发挥 DNA 在侦查破案中的技术导侦作用，系统采用可调容差、同型比对、父母—子女、母子—父、单亲、混合、Y-STR 及相似度比对等多种比对模式，采用相应的比对引擎与算法，提高比对的速度和针对性。同时，随着 DNA 检验技术灵敏度的大幅提升，现场检材来源的多样性、复杂性，混合分型的检出率越来越高，为了最大化的应用混合分型的比对导侦价值，系统增加了混合比对引擎和混合样品专家分析模块，可实现混合检材样品的比对与智能分析，根据样品分型图谱中混合物质电泳片段长度、大小、时间轴等各方面参数，通过计算机快速、高效的拆分组合混合样品间关系，分离混合样品中单个 STR 基因型可能，为侦查、排查增加技术手段。结合重庆 DNA 实验室工作中长期积累的混合样品经验，填补国内 DNA 领域在混合样品分析方面的空白。

【参考文献】

[1] 刘冰. 现阶段我国 DNA 数据库发展的几个关键问题［J］. 刑事技术，2015，40（4）：318-323.

[2] 姜先华. 中国 DNA 数据库建设应用技术现状及发展趋势［J］. 中国法医学杂志，2011，26（5）：383-386.

重庆 Y-STR 数据库建库模式及现状

王　科，王友政，喻永敏
（重庆市公安局物证鉴定中心，400707）

近年来，随着 DNA 领域科学研究的逐步深入和技术方法的日趋成熟，Y 染色体 DNA 数据（Y-STR）开始应用于实际办案，在常规侦查手段都无效的情况下，往往可通过 Y-STR 的排查找到犯罪嫌疑人所在家系，最终锁定犯罪嫌疑人，“甘肃白银连环强奸杀人案”的告破正是 Y-STR 发挥了巨大作用。

重庆市公安局从 2013 年开始进行 Y-STR 数据库建设，该项工作以“科学实施、以案促建、重点采集、实时检验”为原则，通过科学合理的建设方法，逐步建立起全面覆盖重庆市及周边地区重点人员、重点地区的男性家系图谱信息库及未破案件生物检材 Y-STR 数据库。

1　重庆 Y-STR 建库模式

重庆市以大城市、大山区为格局，具有城市人口流动性大、边远山区外出务工人员较多、农村人口多为混居等特点，导致家系调查、样本采集较为困难。首先，经过河南、广东等地调研学习，并对现有几种建库模式进行论证，按照公安部五局“因地制宜”的建库原则，DNA 室全面梳理 DNA 数据库中全部男性重点人员血样并开展 Y-STR 检验。其次，以地区偏远、人员流动性少、盗窃案频发的地区为目标，安排专人进行血样查找、整理归档并进行 Y-STR 检验。最后，结合大要案件中 Y-STR 的排查，以案促建，既有广泛性又有针对性地开展建库工作。

以案促建，即以具有 Y-STR 排查条件但无明确犯罪嫌疑人的现行及未破命案、恶性强奸案、故意伤害、抢劫、系列盗窃等大要案件为依托，在开展人员排查工作的同时完成家系调查及 Y-STR 检验工作，建立相关人员家系及 Y-STR 数据库，在建库的同时推动案件侦破。同时，对犯罪嫌疑人尚不明确的杀人、强奸、抢劫、损失在 1 万元以上的盗窃、系列盗窃及影响重大等案件中现场遗留具有检验条件的生物检材进行 Y-STR 检验，建立现场检材 Y-STR 数据库。

重点采集，即各分局、区县（自治县）局结合当地的发案情况，在所属辖区范围内开展重点地区、重点人员家系排查，刑侦总队根据排查情况筛选确定采集对象后，交由各分局、区县（自治县）局对确定采集对象进行样本采集。

2　重庆 Y-STR 建库现状

重庆 Y-STR 数据库包括重点人员 Y 库和现场检材 Y 库，其中重点人员 Y 库来源于案件排查和重点采集，现场检材 Y 库依托案件有检验条件的现场检材。

截至 2016 年 9 月，公安部物证鉴定中心·重庆市公安局法医遗传学联合实验室已对重庆 DNA 数据库中全部彝族及部分石柱土家族、新疆、云南及贵州沿河等地区重点人员、服刑人员进行了 Y-STR 检验，重庆 Y-STR 数据库库容量已达 3 万余条，涵盖 550 余个姓氏。

3　Y-STR 在案侦中的经典案例

2016 年 6 月 16 日合川区钓鱼城街道金马村 11 组李某某被杀案。2016 年 6 月 16 日，重庆某区钓鱼城街道金马村 11 组李某某被人杀死在家中，现场提取了犯罪嫌疑人遗留的血迹、指纹、足迹等多种痕迹物证，在第一批送检的检材中获得混合基因型，经混合分型拆分后获得 9 个常染色体分型，但

入库未比中。

DNA 大队践行“三个不能停”工作机制要求，终于在现场门把手上提取到遗留微量物证检出常染色体 STR 基因分型和 Y-STR 基因分型，经对所有 DNA 检验数据结合现场情况分析认为此 DNA 为犯罪嫌疑人所留可能性极大，具备利用 Y-STR 进行家系排查条件。专案组立即对重点侦查范围内所有男性开展家系调查和血样采集工作，先后排查血样 1000 余份。经比对，犯罪嫌疑人遗留现场物证的 Y-STR 基因分型与金马村所属刘氏家系、陈氏家系部分人员的 Y-STR 基因分型匹配。根据这一结果，区局立即对以上家族符合作案时空条件、年龄条件的男性进行摸排，但一直未查出有效线索。刑事技术支队与区局刑侦支队多次交流，不断修正、完善 Y-STR 排查方案，建立该命案数据库，利用单亲比对模式，于 8 月 4 日分析出现场物证的常染色体 STR 基因分型与金马村 10 组刘某均符合单亲遗传关系。专案组迅速围绕刘某均全家开展工作，发现刘某均儿子刘必强有作案时空条件，案发后一直外出未归，案件随即告破。

Y-STR 串并系列案件，比中公安部 B 级通缉犯。

自清理命案积案专项行动启动以来，DNA 大队在梳理往期数据过程中，发现梁平区“2015 年 8 月 12 日梁平县石马山公园雷堂春被强奸案”、“2016 年 3 月 5 日梁平县彭诗诗被强奸案”、“2016 年 7 月 23 日胡友书被抢劫案”三起未破案件的 Y-STR 数据一致，极有可能是同一家系男性或同一男性作案，此信息引起了 DNA 大队数据组的高度重视。DNA 大队立即组织人员对此系列案件进行清理，在原检验数据条件欠佳的情况下重新进行分析核对，8 月初确定 DNA 串并结果后，主动与梁平区局联系，确定三起案件可并案侦查，并开展 Y-STR 排查工作进行对接和技术指导。

与此同时，DNA 大队随即开展数据比对工作，利用全国公安机关 DNA 数据库应用系统比中湖南省“2013 年 2 月 18 日湖南龙山姚瑾被杀案”和浙江省“2011 年 12 月 1 日新昌县大市聚坑西村象西路 25 号三楼杀人案”两起命案现场检材，并立即将信息向总队命案支队、梁平区公安局刑事侦查支队通报，并向湖南和浙江核对 DNA 信息。8 月 10 日，国家库比中信息发布了此比中队列，比中结果得到最后确认，比中公安部 B 级逃犯。

4　下一步工作计划

根据公安部对 Y-STR 数据库建设的要求及主管领导、专家的论证建议，结合我市实际及案侦工作需要，逐步完善 Y 库建设相关制度及操作规范，并拟从 4 个方向继续加强 Y-STR 数据库建设。

加强重点人员 Y-STR 库建设。对现有违法犯罪人员，所有酒驾人员，重刑人员进行梳理，并于公安部物证鉴定中心·重庆市公安局法医遗传学联合实验室对接，建立 Y-STR 检验制度，按照规范进行 Y-STR 检验。

以案养库，指引 Y-STR 排查方向。以案件为中心点，根据现场具体情况，结合侦查，采集相关人员进行 Y-STR 排查，实现“以 Y 找群，提供方向，以常找人，确认人员”。

案件侦破后，由当地摸排进行梳理，建立 Y-STR 家系。

建立 Y-STR 比对专用库，缩小比对范围，结合常染色体单双亲比对，根据案件具体情况，进行针对性比对。

建立 DNA 数据库整体质控库的具体要求初探

张少宇[1]，王东升[2]
（1. 重庆市万州区公安局，404000；2. 重庆市江津区公安局，402260）

当前，我国公安机关 DNA 数据库建设日新月异，信息量在侦查破案中发挥越来越重要的作用，但应该看到，部分实验室质控库建设相对滞后，已成为数据库质量控制的短板。随着 DNA 检验技术的不断提高，微量检材检出率不断提升，送检检材中检出现场勘查人员、侦查人员、医护抢救人员等人 DNA 数据，误当作犯罪嫌疑人导致误导侦查方向、贻误侦查战机、白白浪费大量人力、物力的情况屡见报道。公安部第五局已于 2016 年 12 月下发《关于进一步规范和加强全国公安机关 DNA 鉴定工作的通知》，其中质控库建设作为防污染的重要措施被明确提出。建立 DNA 数据库整体质控库对有效遏制垃圾数据入库、提高数据库比对效率、节约人力物力成本、防止冤假错案有重要意义。本文旨在结合笔者 DNA 工作实际情况，就建立 DNA 数据库整体质控库的具体要求进行探讨。

1 合法自愿

《刑事诉讼法》第 130 条规定：为了确定被害人、犯罪嫌疑人的某些特征、伤害情况或者生理状态，可以对人身进行检查，可以提取指纹信息，采集血液、尿液等生物样本。犯罪嫌疑人如果拒绝检查，侦查人员认为必要的时候，可以强制检查。但无论《刑事诉讼法》《公安机关刑事诉讼规定》尚无明确规定可以强制采集除犯罪嫌疑人外的其他公民的血液、唾液等生物样本。在全面依法治国的大环境下，建立 DNA 整体质控库面临的法律风险不能忽视，只能本着自愿的原则进行采集。DNA 实验室应主动征求法制部门意见，共同制定具体的 DNA 质控库建库办法，确保建库工作不触犯法律、不侵犯公民隐私。

2 整体全面

目前我区质控库仅包含 DNA 检验人员、现场勘查人员，在防范污染、保证数据库质量方面发挥重要作用，但实践中发现这个范围仍不够，如我区某命案在送检的死者裤腿中检出 DNA 数据，后排查与殡仪馆的一位工作人员的 DNA 数据一致，但调查该殡仪馆工作人员确曾搬运过尸体，但并无作案条件和作案动机，应属外来污染所致，与案件无关。在不违背法律的前提下，今后 DNA 质控库应尽量做到整体全面，范围可确定 4 类人员：刑事技术民警，包括现场勘查人员、法医人员、警犬驯导员、DNA 检验人员；刑事侦查民警，凡有可能进入现场和接触死者的各科、所、队刑事侦查人员，不包括网络安全监管、经济犯罪侦查等非接触性、无明显物理现场的警种；警务辅助人员，凡有可能接触尸体和进入现场的警务文员和协勤；其他人员：如试剂耗材供应人员、经常接触尸体的殡仪馆工作人员、120 医护抢救人员等。其中第 1、2、3 类人员采集难度相对较小，最好全部采集入库，第 4 类人员采集难度大，可协调采购部门和政府民政、卫生部门争取尽量采集入库。

3 保密安全

当前质控库建设面临的一个难题就是部分需入库人员，尤其是民警思想上有抵触，不配合采集。原因在于有些民警认为 DNA 数据库采集范围为受过刑事处罚、治安处罚和其他涉案人员，自己入库不光彩，也担心 DNA 信息泄露，万一出现污染比中被追究责任等。对此，笔者设想采用以下制度和技术设计来实现保密安全，打消入库人员顾虑，确保质控库建设顺利推进。具体做法：明确整体质控库是 DNA 数据库的类库，人员 DNA 信息仅作本地实验室质控使用，不进入国家库，不参与案件协查比对；由政工部门对采集来的人员血样统一登记身份信息后编码造册，该册采用技术加密防止黑客窃取，同时报同级保密委员会设定密级，按照有关保密规定严格保管，非经严格的审批任何人无权查看；将仅显示编码的血样统一由 DNA 实验室安排专人签订保密承诺书后，至少两人盲检确认数据无误后入质控库。检验中遇到质控库人员数据与检材数据相同系统报警时，检验人员在系统前台只能看到部分编码，其余显示星号。即便质控库管理维护人员在系统后台也只能看到编码而无法获知血样身份信息；对质控库中人员比中现场检材的，对送检单位不进行通报，不追究责任，除非侦查需要也只内部核实核查，不得对外泄露人员信息。

4 科学规范

目前，多数 DNA 实验室为自建质控库，入库人员范围、检测试剂、规章制度等各有不同，这在质控库建设初期是符合 DNA 发展实际情况的，但发展到一定阶段也暴露出一些弊端，如各实验室数据信息不共享，造成浪费；缺乏明确文件，推动力度不够等。DNA 质控库建设牵扯面广（涉及多个警种和外部单位）、量大（人员样品数量多），为了确保质控库规范建设运行，笔者认为，由省级 DNA 实验室统一建立和完善维护较为合理，省级以下 DNA 实验室共用。省级 DNA 实验室应按照《法庭科学 DNA 数据库选用的基因座及其数据结构》《法庭科学 DNA 数据库现场生物样品和被采样人信息项及其数据结构》《法庭科学 DNA 实验室检验规范》等行业标准制定具体建库办法和规章制度，然后上报最好以省厅名义下发文件，利于规范操作实施。

5 小结

建立 DNA 数据库整体质控库不仅涉及技术方面，还涉及法律方面，更涉及民警的切身隐私，需要凝聚共识才能真正将要求落到实处。笔者将建立整体质控库具体要求概括为“合法自愿、整体全面、保密安全、科学规范”只是一家之言，供各位同行参考。我区 DNA 实验室目前正按照上述设想积极向各级领导汇报，做好民警宣讲解释工作，争取各方面的理解支持，为建设 DNA 整体质控库营造良好氛围，待条件成熟时启动实施。

创建重点司法鉴定专业实验室 促进法医 DNA 专业科学发展

肖向宇
（四川省成都市公安局刑警支队刑事技术处，610061）

成都市公安局刑警支队刑事技术处 DNA 实验室成立于 2002 年，近年来，在市局党委和支队领导下、在实验室全体同仁的努力下，实验室建设取得了显著的成绩，于 2016 年被公安部评定为“全国重点司法鉴定专业实验室”，是四川省第一家获评“全国公安机关重点司法鉴定专业室”的 DNA 实验室，同时也是成都市首获“全国公安机关重点司法鉴定专业实验室”的专业。

1 创建重点司法鉴定专业实验室的经验

1.1 领导重视是关键

建“重点司法鉴定专业实验室”是一项综合性的系统工程，涉及人、财、物、政策和工作机制

各方面的内容，仅靠 DNA 实验室一个部门是无法完成的，所以争取各级领导和相关部门的关心支持是创建工作的关键。一是主动汇报，说明讲清创建重点司法鉴定专业实验室的现实意义和预期成效，引起各级领导的高度重视，从资金、用房、人员和政策上给予大力倾斜。二是争取相关业务部门的支持帮助，积极与省厅、公安部刑侦局等业务上级联系，主动邀请领导、专家现场考察、指导工作。同时派出业务骨干到上级部门和发达先进地区学习创建“重点实验室”工作的经验。

1.2 队伍建设是基础

人才是创建工作的基石，队伍建设就是要营造良好的工作环境和氛围，促进实验室的专业建设和人才培养。一是着力培养学科带头人。一位或几位专业知识丰富，科研能力强，具有创新思想和科学管理能力的学科带头人是实验室的核心，他直接决定了实验室的发展方向和高度。二是在创建工作中强调大局观念、协作意识和服务理念等团队精神，打造具有强大凝聚力的实战、科研团队，充分调动技术人员的工作积极性、主动性，为实现实验室建设目标提供可靠的人力支持。

1.3 资质认定是抓手

创建重点实验室，涵盖内容多，标准要求高，专家审核严。实验室应以“资质认定”的理念，狠抓科学管理，促进实验室体系运行规范化，围绕“人、机、料、法、环、测”等要素，制定相应的规章制度和作业指导书，规范各项工作，同时对照《全国公安机关重点司法鉴定专业实验室标准》查找不足，补齐短板，确保贯彻创建要求不走样。

1.4 科学研究是重点

科研能力是重点司法鉴定专业实验室评定的必备条件，同时也是大多数实验室的短板。实验室应具备发展的前瞻眼光和设计思路，把研发、引进新方法、新技术放在重要位置，围绕创建工作，积极开展科学研究和论文写作。一是内部挖潜，采用激励机制鼓励技术人员开展科研工作，营造良好科研氛围。二是对外合作，如建立“警校合作”机制，汇聚多方资源，开展联合攻关，实现不同方向研究资源的合理配置与有效整合。

1.5 资料整理是支撑

实验室平时应注重资料的收集整理（特别是经典案例和业务数据），各项业务材料应尽量翔实，数据应客观准确，收集到的资料应分类归档，便于查找，在此基础上要定期进行数据统计、分析和总结。这样一方面有利于实验室业务工作的管理，另一方面也有利于“重点司法鉴定专业实验室”申报材料的制作，评审组在评审时也能通过这些资料直观、充分、快速地了解实验室的情况。

2 重点司法鉴定专业实验室创建的成效

2.1 鉴定能力、科研水平大幅提升

我室通过创建重点司法鉴定专业实验室，实现了 DNA 检验工作的科学化、规范化，提高了检验鉴定能力，现我室年均检验鉴定数，发挥作用数、数据库库容量、数据库串并/比中数均列全省第一位。在科研方面，实现了科研项目“零”的突破，近年来完成省部级科研课题 3 项，参与制定法庭科学行业标准 1 项，参与制定地方标准 1 项，发表论文数十篇，其中一篇被指定为第 26 届国际法医遗传学大会中国区唯一大会发言文章。

2.2 促进了专业建设

重点司法鉴定专业实验室自建设以来，极大地改善了我室的软硬件条件。实验室改造、扩展了技术用房，购置了二代测序仪，引进了 DNA 专业 LIMS 系统；充实了技术力量，构建了专家型、能手型人才队伍，现我室有主任法医师、副主任法医师、主检法医师等，人员结构合理，其中还有全国刑事技术特长专家后备人才及全国刑事技术青年人才。我室组织的学术活动加强了所在专业与国内外同行的联系，实验室逐渐成为本地区学术交流的纽带，现我室已与省内两所大学建立了长期科研合作

联系。

2.3 品牌效应凸显

创建成为“重点司法鉴定专业实验室”，标志着我室专业建设和技术水准达到了全国一流水平，提升了实验室的知名度和影响力，在司法活动中出具的鉴定文书具有极高的权威性和公信力，得到了政府和社会各界的普遍认可。同时我室在向各级领导汇报工作、申请资源、项目过程中，“重点司法鉴定专业实验室”品牌的辅助和宣传功能得到了充分的体现。

3 实验室建设发展的下一步思考

3.1 争取领导对实验室的持续重视

“重点司法鉴定专业实验室”创建成功后，实验室还要不断的、积极主动的向领导汇报实验室的工作、成绩和困难，出主意，提建议，引起领导对实验室的持续关注和投入，才能解决好实验室后续建设发展中可能出现的人才培养、配套经费、后勤保障等方面的问题，为实验室的提高创新提供良好的外部环境。

3.2 促进实验室内涵式提升

始终坚持把强化能力作为实验室建设发展的重点，促进实验室内涵式提升。一是按照公安部对刑事技术的总体规划，借鉴国内外先进实验室的经验，结合自身发展实践，制定发展规划和实施措施，规划应具有一定的前瞻性和创新性，确保实验室科学、可持续的发展。二是继续以资质认定为抓手，完善管理体系，加强实验室管理和日常工作的制度化、规范化和标准化，提升实验室的管理水平和技术能力。三是充分发挥科研成果在实战中的作用，在现有业务“做大做强”的基础上，研究开发与实战密切相关的检验鉴定方法。

3.3 加强人才队伍建设

实验室发展，人才是基础，建设高水平的人才队伍是实验室长期发展的一项战略任务。因此实验室应高度重视人员梯队建设和人才培养，营造有利于人才脱颖而出的环境与氛围。针对 DNA 专业人才培养不易，应及早制订人才吸纳、培养规划，特别要注意优秀学科带头人的选择和培养，形成年龄结构合理的团队，确保实验室技术人才不断档。

3.4 促进科研发展

实验室的科研发展要以人才为核心，项目为纽带，积极推动学术交流。一是本着平等互利的原则，利用自身的设备条件和行业资源优势，拓展各种渠道，促进与外部机构在科研上的交流、联合与共享，加大与国内外科研机构的交流合作，主动地、全方位合理利用外部资源，强化科研创新能力。二是鼓励和扶持自身技术人员走出去，以参加国内外学术会议及考察培训等形式，及时了解国内外专业发展态势，不断提高实验室在国内外的地位和影响，为实验室的稳定发展奠定坚实的人才基础。三是实验室的科研发展必须要从外部环境和业务需求出发，研究方向和手段应具有自身特色，开创“人无我有，人有我精”的局面，形成独特的科研优势。

实验室被评定为“全国重点司法鉴定专业实验室”是实验室开展创建工作的目标，但更是实验室建设发展的新起点，实验室应依托全国重点司法鉴定专业实验室的平台，建立科学的质量管理体系，切实提高实验室的整体能力，保障侦查、诉讼活动的顺利进行，维护司法公正，这是新时期党和政府、人民对公安机关鉴定实验室的基本要求，也是实验室适应新时期公安工作的根本任务。

以一流的业绩打造 DNA 实验室服务实战的品牌

——同步勘验是前提、针对提取是重点工作机制突创新、快速破案显神威

唐世福，韦　涛，赵　盼，李　伟

（贵州省遵义市公安局汇川分局刑事技术室，563000）

汇川公安分局 DNA 实验室自建成以来，DNA 比中数、破案数和串并数实现了“倍增”，工作成绩得到了领导、同行的肯定和认可，我们的做法是：

1　坚持高标准高起点，狠抓建设工作组织领导，提升 DNA 技术基础支撑能力

一是高起点引进人才。将 DNA 实验室建设工作作为科技强警重点项目全力推进，加大人才引进，我局于 2014 年年底成立 DNA 实验室，2015 年年初投入使用。目前具有专业技术人才民警 3 名，均为大学学历。二是高标准加强硬件设备建设，率先引进国际领先水平的 3500 自动化测序仪等设备。三是高要求推进规范化建设。采取“请进来”、“走出去”等形式不断强化 DNA 实验室民警和文员的教育培训工作，推进实验室制度化、规范化高效运作。2015 年以来，组织实验室民警、辅助文员赴省厅、市局 DNA 实验室参加为期三个月的跟班学习，为使 DNA 技术人员更全面掌握系统操作规范，我局还特邀供应商方面的技术专家前来我局开展“带案指导培训”，一对一、手把手指导开展检验鉴定工作。2015 年以前，我局年均外送委托其他各地 DNA 实验室案件及检材数近 300 余件，比重率不足 5%。实验室建成后 2015 年比中犯罪嫌疑人 68 名，2016 年比中犯罪嫌疑人 84 人。实现了各项数据同比成倍增加。

2　坚持严要求高质量，狠抓现场勘查采痕工作，夯实 DNA 检材源头保障

一是坚持内部深挖人才优配，解决了“谁来干”问题。分局严格按照公安部提出的“现场必勘”和刑事技术专业化发展要求，优化整合刑事技术资源，将原分散在各责任区刑警队及各派出所的兼职技术员统一调整到技术室工作，业务归口管理、人员调配使用。对所有“可勘现场”要求全面勘查，提高痕迹物证的发现提取率，形成痕迹提取工作链、责任链横向扩展到边纵向延伸至底。二是强力推行现场统勘工作机制，解决了“干什么”问题。现场必勘。以“一长四必”为总要求，从细节上、工作流程上加强和规范刑事案件现场勘查工作。有警必出（现场必勘）。110 民警出警后确认系刑事警情并达到立案标准的，必须通知刑侦技术民警出警，开展现场勘查、调查走访、询问受害人、调取录像等工作。信息必采。加强刑事技术基础信息采集、建库工作，积极开展前科人员“凡进必采”和社会人员个人生物信息采集工作。信息必录。严格按照“现场勘查信息系统”录入要求，规范录入，为信息化支撑窜案破案提供鲜活真实的信息。信息必比。对每起现场提取到的痕迹物证、生物检材案件都要及时送检入库比对，切实做到“主动出警”，尽力侦破。三是加强培训督导常态化，解决了“怎么干”问题。全体技术员对 DNA 检材“人人会提取、人人取得到”。为提高技术民警现场采集检材意识，定期召开现场勘查情况碰头会，对一段时间内现场勘查情况进行及时汇总、梳理，并有针对性地发布预警和串并信息，同时组织技术员反思各类犯罪现场，总结现场采痕取证经验教训。为提高技术规范取证，由 DNA 实验室规范生物检材的提取、包装、送检等流程，对技术人员存在问题进行督促纠正指导；为规范工作流程，技术中队明确实验室专人包案对生物检材进行受理、登记、提取、检验，快速、全面处理各种生物物证。

3　坚持工作机制创新，狠抓管理考核推动，支撑 DNA 技术全过程参与破案打击工作

为加快刑事技术工作转型优化，我局从完善机制入手采取综合措施，确保 DNA 技术及时转化为破案打击效益。在分局层面，建立了网上检查督促机制。依托分局刑事技术综合信息网每日警情发布的每日出勘情况通报，DNA 技术民警每天加强对已勘现场信息的了解，加快 DNA 生物检材信息流转和主动对接检材的移送工作，对发现现场技术员在工作中存在的不足加强督导、及时纠正，确保源头信息质量。分局刑事技术综合信息网还设置有 DNA 信息情报研判板块和 DNA 文书发放管理系统，及时准确发布 DNA 比对结果和文书自作信息，使 DNA 工作全透明、全公开，全面服务破案打击工作。在刑侦大队层面，建立了绩效考核管理机制。在刑事技术中队层面，建立了争先创优机制。按照现场勘查数、系统录入数、DNA 生物检材提取、利用率，技术串并案数、比中犯罪嫌疑人破案打击数等指标完善技术员质量考核机制，并通过开展每月之星评比活动为载体，形成“人人有新方法，人人有新点子”的争先创优局面。

4　坚持注重民生服务大局，狠抓 DNA 结果综合应用，着力提升破案打处效能

围绕分局“技术导侦、精确打击”战略发展，按照做强专业队要求，通过夯实基础、加强管理、完善机制、建强队伍等一系列措施，目前我局 DNA 实验室微量检材提取检验能力已走进全省一流水平行列，DNA 技术已成为破案打击新的增长点，特别是通过树立三个优先理念，支撑服务严打“三大类”事关群众切身利益、面广量大的系列性、民生类侵财案件，不断提高打处质效，真正将以 DNA 技术为代表的刑事技术转型优化发展的成效惠及于民，进一步提高群众安全感和满意度。一是牢固树立“命案优先”理念。严格履行“实验室前推机制”，认真落实命案现场勘查快速反应机制，最大限度发挥 DNA 技术支撑命案攻坚作用。先后破获了我区“1・13”香港路颜昌吉被杀案、“2・23”汇川区泥桥路罗德凤被杀案、“3・16”高桥镇孙某被杀分尸案，“5・07”董公寺镇方国仁故意杀人案，“6・09”团泽镇杀人焚尸抛尸案等一系列大案，要案。二是牢固树立“系列案件优先”理念。切实加强“流窜作案、团伙作案”现场勘查检验工作，大幅提高现场生物物证的检出率，DNA 技术成为“打系列、打团伙、打流窜”作案新的增长点，2015 年以来通过在现场生锈的火钳上提取脱落细胞，直接比中“6・18”茅草铺理发店被持刀入室抢劫案；在茶叶盒子上提取的脱落细胞直接比中“7・13”汇川区茅草铺张维被抢劫案，直接比中犯罪嫌疑人一名，同时还比中“7・12”汇川区茅草铺张燕被抢劫案等系列盗窃、抢劫案件，先后攻克团泽镇幼女张华雨被奸案（衣服接触脱落细胞）、“6・09”海狮路简美莲被强奸案和“5・17”汇川区秦皇岛路周成露被强奸案等一批有影响的疑难案件。三是牢固树立“民生案件优先”理念。扎实做好民生案件特别是多发性、群众反映强烈的砸车窗盗窃车内物品、高发不下的入室盗窃等侵财性类案件现场提取检材的检验工作，确保检出率，提高民生案件防范控制能力。2015 年以来通过 DNA 比对认定“6・21”汇川区东连线何某、雷某砸车窗盗窃车内财物案、“6・22”汇川区天仪厂库房被盗案、“7・09”汇川区北部湾敖世刚家被盗窃案、“7・22”汇川区洗马路曾辉娅家被盗案和“6・10”汇川区高坪镇吉云超市被盗案等，侦破了一大批群众反映强烈的民生案件。

汇川分局将继续按照一流标准建强区县级 DNA 实验室，真正使 DNA 成为领导第一关注点、侦查第一破案力、打处新的增长点，有力推动了刑事技术工作可持续发展，DNA 实验室建设取得了实实在在的成效。在今后工作中，我们将继续坚持科学发展观，紧密立足本地实际，认真学习兄弟单位先进经验，突出重点，破解难点，进一步深化刑事科学技术改革创新，不断强化刑事科学技术队伍建设，着力夯实基层基础，不断开创刑事科学技术工作新局面，为维护一方平安再作贡献。

浅谈视频信息联合 DNA 技术在刑事案件中的应用

宋三平[1]，宋　振[1]，赵　杰[1]，贺永锋[1]，李　琳[2]
（1. 陕西省公安厅刑侦局，710018；2. 陕西省西安市公安局交警支队，710085）

1　案例简介

案例 1：2016 年 11 月 23 日，西安市某小区发生一起盗窃电动自行车案。现场为开放式的公共场所，很难提取到有价值的痕迹物证。现场勘查人员借助视频信息，分析犯罪嫌疑人在现场作案出入大门情况，发现犯罪嫌疑人在入门时有磕食瓜子的细节，从而精准提取到遗留在外围现场的生物物证，进而获得犯罪嫌疑人 DNA 分型，通过快速协查平台，直接锁定犯罪嫌疑人迅速破案。

案例 2：2016 年 7 月 11 日，西安市某地纸包鱼饭店发生一起店铺被盗案。报案人称：2016 年 7 月 10 日 23 时许其店里关门打烊，2016 年 7 月 11 日 9 时 30 分许，其来店里发现店门门锁变形，店内的保险柜外表全被损坏但未打开，平板及现金被盗。现场监控显示犯罪嫌疑人在店内有喝饮料等行为。技术员凭借视频，在现场提取到了果粒橙瓶、雪碧易拉罐、犯罪嫌疑人擦屁股纸等生物物证，成功检出犯罪嫌疑人 DNA 分型结果，并通过快速协查平台，迅速锁定犯罪嫌疑人。

案例 3：2014 年 9 月 12 日，西安某区十六街坊发生一起盗窃自行车案。受害人张某报案称：2014 年 9 月 12 日 12 时许下班回家将自行车锁在 8 号楼前，直到下午 16 时许发现车子不见，于是报案。被盗捷安特 FCR3300 公路越野自行车，白绿相间，价值 2000 余元。现场勘查未能突破此案。勘查人员调取小区视频资料，发现发案期间有一名男子骑自行车进入小区并将自己的自行车搁置墙角，将受害人的越野自行车骑走。现勘人员随即将现场墙角搁置的自行车车把手保护并提取。后经 DNA 检测、比对，比中犯罪嫌疑人张某，该案顺利告破。

2　讨论

刑事案件的侦破依赖各种技术手段的综合应用。随着视频监控系统的广泛布控，视频信息被应用于犯罪现场重建、犯罪行为的分析、现场勘查痕迹物证的提取等方面，并发挥着越来越重要的作用。然而，视频技术及信息的采集应用存在以下几点受限：一是分布受限，维护不到位。二是视频信息易受干扰，直接锁定困难重重。三是整合资源困难，信息梳理繁重。但技术手段的应用需要综合各个技术手段的优点才能更好地服务侦查破案。

本文所述的 3 起案件均是通过对现场勘查后无重要进展，而后调取相关视频信息后，发现、提取到重要生物物证，进而成功检出 DNA 信息，并依托快速协查平台锁定犯罪嫌疑人的。笔者总结应用的经验：第一，高度重视技术的综合应用。指纹、足迹等与 DNA 技术联合应用已很广泛；而视频技术还有很多可挖掘的资源，尤其在现场简单、犯罪嫌疑人逗留时间短、现场发现的痕迹物证少或无的情况下，现场勘查引入视频信息往往会有意外的收获，如案例 1 中犯罪嫌疑人出入大门时遗留的瓜子皮等细节行为、案例 3 犯罪嫌疑人留在现场的自己的破旧自行车。第二，视频技术搜索重要线索、DNA 技术锁定犯罪嫌疑人。线索在于某一项技术而言也许意义甚微，而综合应用往往能取长补短。视频技术发现犯罪嫌疑人细微的行为可能会遗留痕迹、物证，DNA 技术能让这个信息更加精确，“落地”成为证据。第三，信息采集的及时性和有效性。3 起案例均是在极短的时间内就调取了视频信息分析，准确定位到了相应的生物检材。DNA 信息有自身的缺点：易污染、易淬灭等，而现场第一时

间发现、保护并采取得当的提取方式就要求现勘人员要经过专业培训或专业指导才能做到标准、规范、有效地提取。第四，快速协查平台的高效性。“快速协查平台”全称“公安机关 DNA 数据库快速比对实战应用平台”，自 2016 年 11 月运行以来，实现了全国 DNA 数据的共享和快速比对，极大地消除了数据应用壁垒、实现了数据全面、高效、快速的应用，亦成为刑事技术同人的又一把“利器”。

总之，刑事技术人员应充分了解视频技术和 DNA 技术的优缺点，在具体的案例中扬长避短，最大限度发挥各自的优势，才能更好地服务侦查破案。

全国 DNA 数据库在聋哑人系列流窜盗窃案件的应用

刘利平
（甘肃省金塔县公安局刑事科学技术室，735300）

1　案例资料

1.1　简要案情

某年某日，某县 1h 内连续发生 3 起重大砸车窗盗窃车内财物案件，总价值约 14 万元。

1.2　生物物证提取情况

经技术人员认真细致地勘查现场，在其中一辆被盗车车门不锈钢把手下方，发现遗留有一新鲜的微量暗红色斑迹，疑似血迹，分析为犯罪嫌疑人在砸车窗时手部被划伤所留，遂用棉签干、湿二步擦拭法擦拭提取送检。

1.3　DNA 数据库串并情况

按 GA/T 383—2014 中硅珠法提取 DNA，使用 Globalfiler 试剂盒在 ABI9700 扩增仪上进行 PCR 复合扩增，扩增产物应用 ABI3130 型 DNA 序列分析仪电泳分离和 GeneMapper ID-X 软件分析，检出一名男性 STR 分型，后将 DNA 数据导入全国数据库后，通过反复比对，虽未能成功比中嫌疑人，但 STR 分型在全国数据库中一连比中三起外省车内物品被盗案件，实现 DNA 跨省成功串并案件，串并比对结果充分说明这是一伙在全国范围内流窜作案的犯罪团伙，但之后两年内又多次发送查询比对仍未果，案件侦办陷入僵局。

1.4　DNA 二次检验成功破案

根据案发现场监控录像，经海量筛查，在三个不同的案发现场，均出现发现一男一女两名可疑人员，均戴口罩，后经逆向视频追踪，从多个角度成功捕捉到男性犯罪嫌疑人比较清晰的面部特征、衣着细目特征，通过大量的摸排工作，仍一无所获，后根据 DNA 数据库串并的案件信息，技术人员将全国范围内串并的每起案件零散的情报资料进行整合、分析、研判，在全国范围内查找流窜犯罪嫌疑人的蛛丝马迹，两年后，技术人员通过全国研判平台查询到外市公安局发布的《公安部部督“11·19”拐骗操纵聋哑人违法犯罪案》，外市成功抓获十名聋哑人组成的盗窃团伙，该盗窃团伙疯狂作案 174 起，并从中发现一起车内财物被盗案中监控录像中的一名山西籍聋哑犯罪嫌疑男子与本地系列案中的嫌疑男子从相貌、衣着款式等细节特征高度吻合，通过细致、深入的分析、研判，技术人员提出了一个大胆的假设想法：本地犯罪嫌疑人可能为“聋哑人”。为查明真相，技术民警赶赴其服刑监狱，对部督案件中的六名男性聋哑人依法采集了 DNA 血样，经实验室比对，现场遗留的血迹的 STR 分型与

聋哑犯罪嫌疑人武某的 DNA 数据完全吻合，聋哑同伙陈某 STR 分型与山东省某县盗窃车内财物案 DNA 检验数据一致，同时又利用 NEC 指纹自动识别系统进行比对碰撞，比中在外市盗窃不讲真实身份的两名犯罪嫌疑人哑巴甲、哑巴乙为高度民主团伙成员姜某、马某。

至此，DNA 检验进一步精准锁定聋哑犯罪嫌疑人武某即为本县、陕西省、安徽某县车内物品被盗案等九起案件的犯罪嫌疑人之一，聋哑犯罪嫌疑人陈某为山东省某县车内物品被盗案案犯罪嫌疑人之一，成功破获全国流窜作案 9 起。

2 讨论

综观此案历时两年多，DNA 数据为犯罪嫌疑人的刻画、活动轨迹提供重要支持，并最终根据 DNA 数据库成功查破该部督系列案件，是全国 DNA 数据库在系列侵财案件串并查破的典范，彰显了 DNA 技术在侦查破案中的关键作用，该案突破传统，完美演绎了“合成战、科技战、信息战、证据战”四战精髓，又一次体现了多种信息资源集成作战、情报导侦、刑事科学技术在现代侦查破案中的巨大威力。

拓展视频触角　关联 DNA 物证在破案中的启示

刘利平

（甘肃省金塔县公安局刑事科学技术室，735300）

1 案例资料

1.1 案例 1

某年某日，某县发生系列盗窃商铺香烟案件 18 起，经调取监控发现为同一人所为，经图侦辨认未果，案件陷入僵局。后技术人员对监控中可疑男子动作进行全方位逆向、顺向跟踪排查，发现该男子有一瞬间抽烟的动作，转身后烟头就不翼而飞，根据抽烟时间只有 25s 判断，香烟剩余长度较长，分析可能将烟头扔到旁边的花盆内，此时距案发时间已三天，技术人员赶往现场，发现花盆内遗留有 18 枚烟蒂，经筛选发现一枚较长的烟蒂，经 DNA 检验、数据库比对，案件成功告破。

1.2 案例 2

某年某日，某市发生系列夜间钻窗入室盗窃案件 20 余起，后在一案中，技术人员扩大监控视频范围，通过模糊视频跟踪，终于在外围现场一角捕捉到犯罪嫌疑人有一吐痰的小动作，于是迅速在对应地点细心查找，成功提取到新鲜痰迹，经 DNA 鉴定系列案件顺利告破。

1.3 案例 3

某年某日，某县发生一起重大盗窃单位办公室财物案，监控中发现一名可疑男子，因现场破坏严重，未提取到任何痕迹物证。技术人员反复查阅楼层监控，发现可疑男子有抽烟动作，但无法查到烟蒂扔于何处，后又在四楼捕捉到犯罪嫌疑人向垃圾筒有扔一物品的细微动作，经查找，发现空香烟盒一个，便对办公楼所有垃圾筒内的烟蒂进行收集，共收集到烟蒂 200 多枚，经逐一筛选，从中发现一枚与香烟盒品牌对应的烟蒂，经 DNA 检验、数据库比对，成功比中一流窜前科人员，案件宣布告破。

2 讨论

现场生物物证的精准提取是 DNA 检验的源头，不仅要求量，更要求质，然而当前随着犯罪的不

断升级，犯罪分子作案反侦察意识不断增强，基层技术人员成功提取到生物检材的机会越来越少，因为生物检材有时看不见、摸不着，导致发现不了、提取不到，有时盲目提取，耗时费力却成无用功，挫伤提取的积极性，造成提取率低的状况。而传统的图侦技术的重点是围绕视频捕捉犯罪嫌疑人的体貌特征、交通工具、而往往忽略嫌疑人动作中潜在的生物物证线索。

在大数据时代，只有高度共享、深度应用，实战才能产生裂变效应，许多案件当使用传统现场勘查模式、图侦辨认首战失利后，案件陷入“山重水复疑无路”的僵局，原因是技术、图侦民警各自为战，因视角不同，信息不共享，造成重要生物物证提取不及时而白白损失，因此不能拘泥于传统，要充分运用发散思维、关联思维，积极联合图侦技术，无限延伸拓展监控视频触角，从关联生物物证的视角在视频中搜寻生物物证。视频监控为我们直观、多角度的展现出犯罪嫌疑人作案前后的动作轨迹，技术人员要以案件“时、空、人、物、迹”五要素作为调阅监控的重点，细致入微地观察犯罪嫌疑人活动轨迹，争分夺秒发现犯罪嫌疑人的可疑行为、反常行为、特定行为和矛盾行为，我们通过分析犯罪嫌疑人这些反常行为，可以从中捕捉到与此行为相关的生物检材，如丢弃的烟头、鼻涕、痰迹、嚼过的口香糖、喝过的饮料瓶、吃剩的果核、丢弃的作案工具、人体排泄物、接触过的物品等，这些监控成为精准提取生物检材的宝库，能做有的放矢，最终精准提取到犯罪嫌疑人遗留的生物检材，有效地减少了以往勘查工作的盲目性，继而通过 DNA 技术、数据库比对快速精准锁定犯罪嫌疑人，使案件出现“柳暗花明又一村”的转机和突破，完美演绎 DNA 技术在疑难案件中的攻坚克难能力，大大提高了 DNA 检验的使用效率，为侦破同类案件提供了新的思路和方法。

浅谈现场勘查、法医等技术在生物物证采集、检验中的作用

张春荣，拓　朵

（甘肃省庆阳市公安局刑科所，745000）

DNA 存在于每个有核细胞中，目前许多种特殊检材中都可以检出 DNA，而一旦成功地获得了关键物证的 DNA 分型，就能够成为案件侦破的关键线索，为案件定性及法庭审判提供直接证据。在实战中，从现场勘查到实验室检验是多环节的链条关系，每个步骤对于获得检测结果都是至关重要的。随着技术方法的成熟和试剂的不断开发与实际应用，实验室的检验逐步走向规范化、程序化，特别是扩增与检测环节。而现场与实验室工作中正确适当的采集提取就显得越来越重要。在实际工作中，如果能够结合现场勘查、法医、痕迹、视频技术等进行有针对性的发现与采集提取，就会为后续的 DNA 检验创造有利条件。

1 现场勘查与分析在生物物证采集工作中的作用

参与现场勘查，及时了解案件整体情况，有助于生物检材的合理采集以及后续实验室检验工作的顺利开展、检验结果的合理解释。

案事件现场进出口、来去现场路线、外围现场以及潜伏守候、窥测踩点处是发现生物物证的重点部位。通过现场勘查与分析，对这些重要部位进行确定以后，进行重点搜索，有可能发现犯罪嫌疑人遗留的生物物证。

现场勘查中，结合现场情况，通过对众多现场物证进行分析、筛选甄别，有可能发现属于犯罪嫌疑人留下的重要物证，比如孤立的可疑血迹、多余的物品像帽子、手套、衣物等，这些对案件的侦破起着关键性作用，优先快速检验能够及时为案件侦破提供方向和线索。

了解案件、现场具体情况以及生物物证特征等内容，对 DNA 检验具有重要作用。如受伤出血一人还是多人，可疑血迹是室内还是室外、腐败陈旧还是新鲜血迹等，这些有助于采集方法以及检验策略、方案的选择，特别是对于微量检材，方法、策略的选择往往至关重要。

生物物证有许多是微小的、难以发现的，通过现场勘查与分析，根据可见的痕迹物证推断嫌疑人的作案过程和可能触碰过的物品，可以有针对性进行采集提取。

通过现场勘查与综合分析，对作案人的地域范围进行刻画，结合性别等条件，在排查样本的选择、样本混合分型拆分入库查询比对中都能够起到积极的作用。

2 法医检验在生物物证采集工作中的作用

人身伤亡案件现场中，尸体上会留有许多证据，通过法医检验分析，对 DNA 的发现、采集都会有重要帮助。

许多案件现场物品繁杂多样，通过法医检验，根据损伤推断出致伤工具、作用面等，有利于重点物品、重点部位的确定和合理保护，为后续的采集与提取检验创造良好条件。

原始现场中，在移动尸体前，通过对尸体的原始位置、姿势、衣着变动、血迹分布形态等情况进行分析，有助于判断犯罪嫌疑人接触过的、可能遗留有犯罪嫌疑人生物物证的部位，有助于从犯罪嫌疑人身上发现可能遗留有受害人生物物证的部位，从而重点进行采集提取。

根据法医检验对案件性质的分析，有利于确定提取检材的重点方向，如为强奸案件，就要对涉及性侵害方面的生物物证进行全面的采集提取。

3 手印等痕迹在生物物证采集工作中的作用

接触 DNA 存在于人体接触的物品表面。因此现场发现遗留有指印、掌纹，显然表明很可能会留下 DNA。在这种接触 DNA 的发现采集过程中，作拍照固定后，需要协调指印显现检验和 DNA 检验的关系，一般指纹显现试剂对 DNA 检验没有影响，通常先进行指印的显现检验。当发现手印不具备检验条件的，应先提取接触 DNA。这里需要注意污染问题。由于在其他地方使用过的手印刷、粉末可能包含了那些地方的生物物证，并转移到当前现场。因此，使用粉末显现手印时，应取用新的无人源性污染的刷子、粉末。

4 视频监控信息在生物物证采集工作中的作用

近年来视频监控系统逐渐被重视，在道路、车站、宾馆、商场、小区、住宅等地方，视频监控摄像头随处可见，运用视频监控系统侦破的案件越来越多。视频侦查已经成为侦查破案的利器。视频监控获得的信息，对生物物证的发现提取也能起到重要作用。

4.1 为寻找生物物证指明方向

一起发生在宾馆的盗窃案件，通过视频监控发现犯罪嫌疑人在进入被盗房间前在楼道徘徊吸烟后将烟头扔进一垃圾桶内，侦查人员及时搜索并提取到了烟头，经检验入库后比中了犯罪嫌疑人，很快就破获了该起案件。

4.2 有助于准确确定肉眼不可见的生物物证的存在部位

一起凶杀案件，视频监控显示犯罪嫌疑人特征图像不清楚，利用价值不高，但通过 DNA 技术人员查看发现受害人与犯罪嫌疑人有撕拉的过程，特别是犯罪嫌疑人拉扯受害人一侧肩部衣服动作明显，于是在该部位进行脱落细胞提取后检出了犯罪嫌疑人的 DNA 分型，为诉讼提供了重要证据。

根据实际情况，结合现场勘查、法医、痕迹、视频等专业技术提供的信息，对生物物证进行有效的发现与采集提取，并制定合理的检验方案，是 DNA 技术更好地服务于侦破案件的有效途径。做好这项工作，需要有一定的现场勘查能力、敏锐的观察分析判断能力和良好的沟通综合能力。随着侦查工作机制的改变与逐步推进，各种侦查手段、技术手段的结合必将在案件侦破工作中得到更多更好地体现与深入运用。

青海省 DNA 数据库建设中的检验方法研究

米桂珍[1]，鲁　斌[2]，乔莺莺[3]，王占海[2]

（1. 青海省海南藏族自治州贵南县公安局；2. 青海省公安厅；3. 吉林省长春市博坤生物科技有限公司）

青海省公安厅于 1999 年建立了法医 DNA 室，2004 年开始建立 DNA 数据库，至 2017 年拥有的违法犯罪人员 DNA 数据库 350308 例，占全省常住人口的 6%以上。现已通过青海省 DNA 数据库系统为省内外破案和比中信息每星期至少 1 起。2017 年至今通过青海省 DNA 数据库系统比中案件 40 起，且比中的多为现发的在侦案件，很多省内有影响的案件均是通过 DNA 技术或 DNA 数据库第一时间提供精确的破案线索和证据直接破案。

而青海省地处青藏高原，平均海拔在 3000m 以上，大陆性高原气候明显，常年气候干燥、紫外线强。在这种气候环境下，给数据库样本的保存带来了很大影响。采样后环境过于燥失水快，白细胞与采集载体纤维束结合过于紧密，在检验的过程中 DNA 释放困难；紫外强度高，样本降解速率快，且青海人群红细胞及血红蛋白含量较内地人群高，建库样本由常量变为微量甚至是疑难检材，上述几方面因素造成建库检验一检检出率较内地实验室低，带来较多的复检工作。

在保证建库工作时效性的前提下如何提升检出率，本文进行了详细汇报。

1 材料与方法

1.1 试剂

数据库专用磁珠法 DNA 提取试剂盒（KingFisher　Flex 专用，FQ，博坤生物，中国），PowerPlex ©18D 系统（Promega，美国），DNATyperTM19 试剂盒（公安部物证鉴定中心，中国）。

1.2 仪器

3mm 手持式打孔笔（浩源，中国），微量生物物证 DNA 自动化提取纯化系统——高通量版（博坤生物，中国），基因扩增仪 9700（珠海黑马，中国），3730XL-遗传分析仪（ABI，美国）。

1.3 样本

2000 份采集的数据库血液样本，均来自于青海省法庭科学数据库录入的违法犯罪人员血样。

1.4 方法

1.4.1 样本制备

用手持打孔器打一片直径 3mm 的样本片于半裙边 PCR 板的孔底。

1.4.2 提取

将 A 组样本按照数据库专用磁珠法 DNA 提取试剂盒（KingFisher　Flex 专用，FQ）标准作业手册配合数据库专用磁珠法 DNA 提取试剂盒（KingFisher　Flex 专用，FQ）进行 DNA 提取，用时 24min。

1.4.3 扩增

按照表 1 进行扩增体系制备及扩增：

表 1

	PowerPlex 18D 系统	DNATyper19 试剂盒
扩增体系	按照 PowerPlex 18D 系统的标准作业手册配置反应液，每孔用移液器吸取 5μL 反应液加入其中，加入 5μL 1.4.2 中的 DNA 产物；加入 10μL 石蜡油	按照 DNATyper19 试剂盒的标准作业手册配置反应液，每孔用移液器吸取 9μL 反应液加入其中，加入 1μL 1.4.2 中的 DNA 产物；加入 10μL 石蜡油
反应参数	96℃×1min→（94℃×10sec→60℃×1min）×27 循环→60℃×20min→4℃保温	95℃×11min→（94℃×30sec→59℃×2min→72℃×1min）×30 循环→60℃×60min→25℃保温

1.4.4 电泳及 STR 分析

按照表 2 进行上样体系制备：

表 2

	PowerPlex 18D 系统	DNATyper19 试剂盒
上样缓冲液配置	1ml 去离子甲酰胺+120μL CC5 ILS500	950μL 去离子甲酰胺+50μL 内标
电泳上样体系	12μL 上样缓冲液+3μLPCR 产物	12μL 上样缓冲液+3μLPCR 产物

将制备好的电泳体系，通过 AB 公司的 3730XL 型遗传分析仪进行电泳分离，电泳结果采用 GeneMapperIDv3.2 分析软件分析，获得等位基因分型图谱。

2 结果

2000 份样本按行标《法庭科学 DNA 实验室检验规范》（GA/T 383-2014）提取方法并应用 PowerPlex 18D 系统、DNATyper19 试剂盒，经 PCR 复合扩增 STR 基因座；扩增产物应用 ABI-3730XL 型 DNA 序列分析仪电泳分离和激光扫描分析，按行标 GA/T 1163-2014 分析样本的基因分型。扩增效果如图 1、图 2 所示。

3 讨论

本文对 2000 份样本进行测试，其中 1653 份样本均获得完整的分型结果，检出率 82.7%。图谱整体基线整齐，无 OL 峰等杂带，均衡性较好，整板数据进行分析效率显著提升，大幅缩减了分析环节，且检出率有所提升，减少的复检的样本数量，总体上提升的建库工作的工作效率。

在此之前，实验室建库采用直扩、碱裂解方法进行样本的扩增。但结果并不理想，检出率仅有 64%。且样本污染较多，图谱整体基线不整齐，杂峰多，均衡性较差。往往需要花费大量时间及人力进行数据的分析。

分析原因，主要是用数据库专用磁珠法 DNA 提取试剂盒（KingFisher Flex 专用，FQ）提取过程中利用过夜浸泡高温快速裂解方法，使尽量多的白细胞从纤维束中解放出来，增加了裂解产物中 DNA 的量，同时对磁珠有半定量的效用，可以很好地实现大量 DNA 与微量 DNA 吸附的平衡，从而保证了批量样本图谱的峰高范围。并且裂解与提取时间用时少于 1h，保证了工作的时间效率。而 17.3%的不成功样本分析原因为采样量少、采样本身已污染不能建库。针对这些不合格样本，应进行前期筛查，及对标准化信息采集人员进行标准化采样培训。已保证高质量、高效率的完成全民建库。

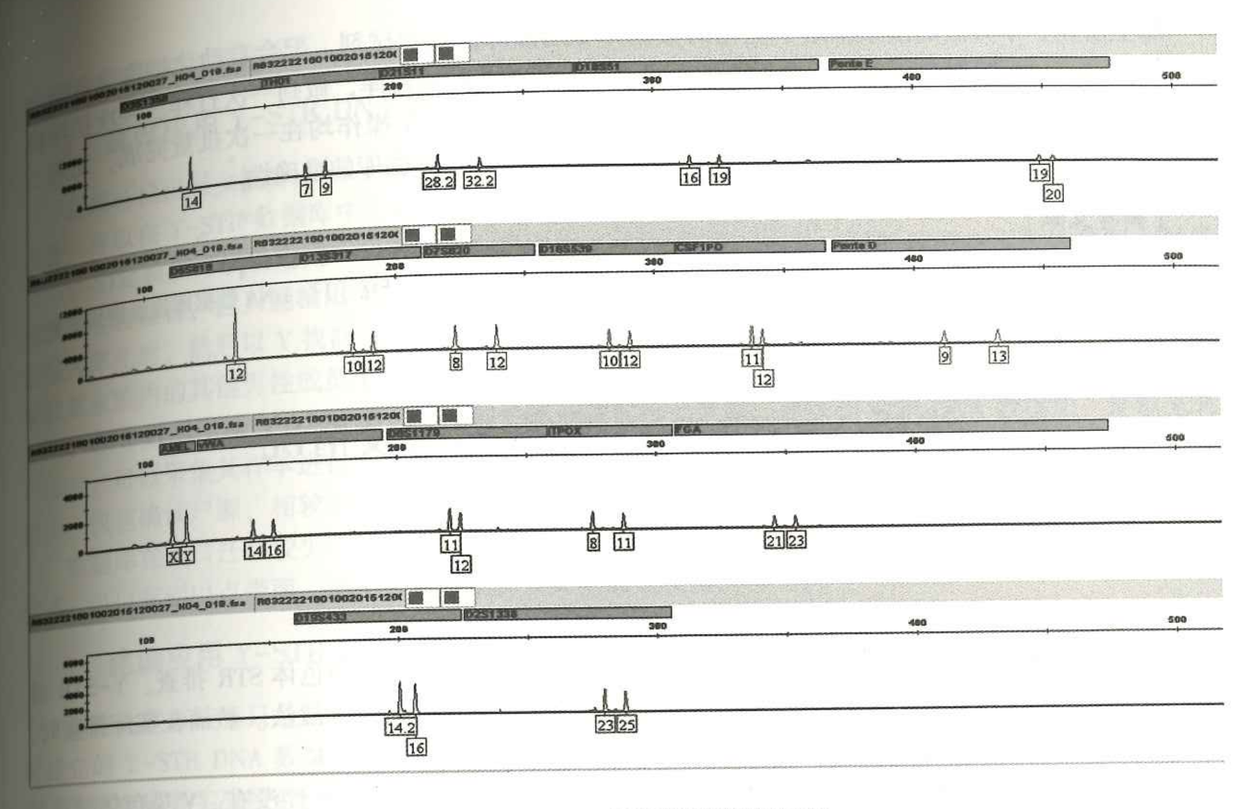


图 1 PowerPlex 18D 系统扩增效果图举例

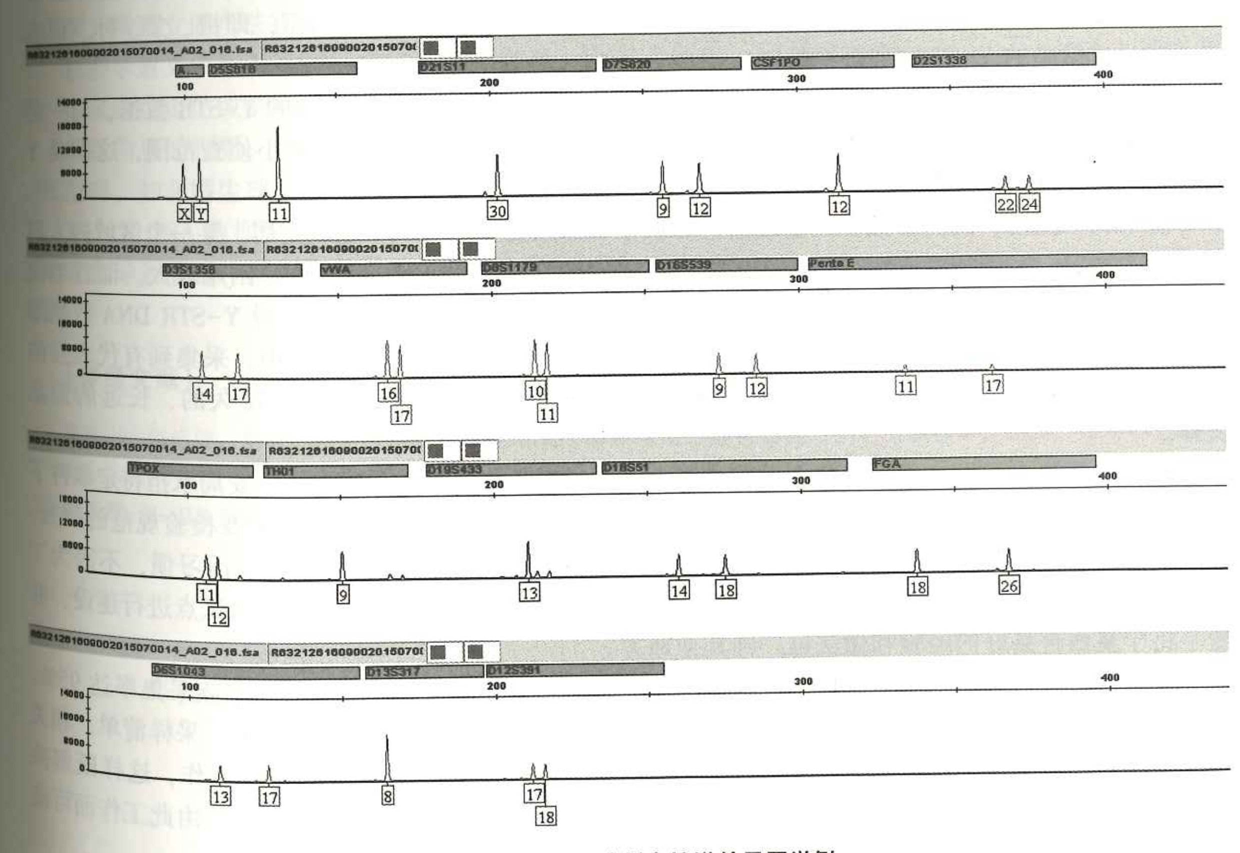


图 2 DNATyper19 试剂盒扩增效果图举例

综上所述，本方法的摸索采用了优化的数据库专用磁珠法提取试剂，配合自动化提取设备联合PP18D与Typer19试剂盒，更利于在高原的大批量数据库样本检验建库，做到一次打样、一次扩增检测成功，做不出的样本基本为无DNA样本或有污染不能建库。人工操作均在一次批量完成，无须二次重复，减少了人工操作在操作过程中出现错误的影响，保证了数据库的准确性。

【参考文献】

[1] 吴薇薇，郝宏蕾，苏艳佳，等. 批量陈旧血样自动化建库检验方法的应用研究［J］. DNA数据库建设应用成果与展望，2010（9）：33-36.

浅析Y-STR DNA数据库建设情况

刘旭光

（宁夏回族自治区西吉县公安局，756200）

近年来，DNA技术发展迅速，为侦查破案提供有力证据。多采用常染色体STR排查。Y-STR排查法是指利用男性Y染色体父系遗传特性，对一定范围内人群进行排查的战法。然而在实际排查时，嫌疑范围内的家庭成员大多处于流动状态，很难全部采集到相关个体的样本。

Y染色体是决定生物个体性别的染色体的一种，只有正常男性拥有，女性没有。Y染色体呈现父系遗传，他只能由亲代中的父亲传递给子代中的儿子，是种族中父系遗传的纽带，在Y染色体上留下了基因的族谱。因此，同一父系家系的男性成员拥有相同的Y-STR单倍型，即祖、父、孙、伯或叔、堂兄或堂弟的Y-STR数据一致。

刑事侦查工作中便可以借助Y染色体这一遗传特性，将犯罪现场提取到的Y-STR数据，与一定范围内的家系进行比对，比中后，便可以指向犯罪行为人所在家系，从而缩小侦查范围，这即是Y染色体应用于刑事侦查的原理。

鉴于我国国情，国内百姓乡土情结浓，习惯于以家族为单元在一个地域定居，某一个区域内人群相对较为稳定，家系相对固定。但是在短期内建立一个全覆盖的DNA数据库，困难较大。而且当前的社会治安形势日趋复杂，刑事案件又依然在高位徘徊。从这些形势来看，建设Y-STR DNA数据库可以良好的缓解这一状况。因此，根据Y-STR的生物特性，只需在一个家族中，采集到有代表性的男性血样，在短时间内就能建设Y-STR DNA数据库，为刑事侦查工作提供持久的、长远的信息支撑。

比如宁夏西吉县在这样一个特殊的背景下，由自治区公安厅牵头和西吉县公安局承担特定条件下的艰巨任务，开展Y-STR DNA数据库建设以及涉及的家族调查、人员样本采集及检验规范的研究。特别指出“特定条件下”是指民族自治地方，工作必须考虑少数民族的风俗、生活习惯，不因为工作方式不恰当引发社会矛盾、责任事故甚至社会稳定问题。积极将宁夏西吉县设为试点进行建设，并着手将宁夏西吉县好的经验和做法推广到其他地方。

宁夏西吉县约60万常住人口，男性占比51%，确定了2万名多采集对象，家族采集率达95%，送检近2万份样本。规范档案管理，设有专门的档案室，主要保存纸质的家族关系、采样清单，相关制度文件等。这也得益于教育、卫生部门的积极配合，开展“地方病调查研究”工作，这样既解决了公安警力不足问题，又有效缓解了采集对象跟民警工作的抵触情绪，正确的处理了由此工作而可能引发的社会问题。

我们从宁夏西吉县公安局建设Y-STR DNA数据库以及参考其他省、市的建设情况，并结合实际

及理论分析出两方面内容。

1 建设应用Y-STR DNA数据库的优势

在现场检出男女混合DNA分型时，Y-STR检验可以排除女性DNA成分干扰，获得明确的男性信息，可以在Y-STR数据库中进行比对。

Y-STR检测可以确定同一父系的所有男性的Y-STR信息，在某一犯罪现场由于条件限制，虽然获取了生物检材，但只能检出Y-STR数据，无法获得或确认犯罪嫌疑人DNA样本时，将其Y-STR数据入库比对，然后以Y找群，缩小侦查范围，从中筛选出可疑人员，若该人员不在此地时，可以采取其家族内的其他男性成员生物样本。

Y-STR数据库建立，对于无名尸体的快速侦破有很大意义。建立Y-STR DNA数据库，发现无名尸体时，可以采集其样本进行Y-STR分析，确定其家族信息，然后对家族人员进行摸排，缩小侦查范围，快速确认尸源，相较于大面积的摸排走访调查来讲更有效。

数据库在人口迁移较少、性观念传统、地域相对封闭的农村地区内它能快速确定犯罪嫌疑人所在家系，可以起到以点带面，缩小侦查范围，发挥其高效快捷的作用。

2 建设应用Y-STR DNA数据库的不足

现在大多家族库只是简单的Word文档，没有专业的系统，因此建立一套专业的系统实属需求，对建立的Y-STR DNA数据库跟省厅的常住人口系统、警综系统、DNA库数据相对接，进行资源共享，为侦查破案实战服务。

人员样品采集可能涉及法律、社会等诸多问题，样本的采集，稍有措施方式不当易形成社会不稳定因素，需建立健全法律来规范采集行为。

社会学意义家系不等同于遗传学意义家系。由于非婚生、领养等现象的存在，二者目前不能等同。而又通过走访或资料采集无法获得这些信息，由此造成的结果也不可预知。

家系信息的收集、存储和使用过程中存在风险隐患。Y-STR DNA数据库中涉及的家系信息属于隐私范畴，如非婚生现象，如果泄露将对地方的社会、家庭关系产生巨大的冲击。

Y-STR DNA数据库建立涉及环节、人员众多，从收集、整理、存储、应用，主观故意和客观疏忽均可能导致泄露、误用和滥用等，会导致Y-STR DNA数据库建设的初衷走向畸形，引发新的社会问题。

【参考文献】

[1] 葛百川，彭建雄，刘冰. DNA数据库实战应用战法体系与能力建设研究［J］. 刑事技术，2016，41（4）：259-264.
[2] 杨玉章. Y-STR DNA数据库建设及应用［J］. 河南警察学院学报，2013，22（5）：47-53.

浅谈法医 DNA 检验中混合样本的分离检验技术

韩俊萍，马　原，李　洋，张金丽，乔磊磊，黄有为，刘金彦，吴　谨
（北京市公安局朝阳分局刑事侦查支队，100025）

目前，对于犯罪现场遗留的血迹、精斑、唾液斑、毛发等常规生物检材的 DNA 分析，STR 检验技术已经非常成熟，在案件侦破中发挥了巨大的作用。然而，在实际检案中常常会遇到一些混合生物样本，如性侵犯案件中的男女混合样品、混合唾液斑、混合血斑等，而且这类样品数量也有逐渐增多趋势。采用常规 DNA 检验方法检验混合样品往往得到混合 DNA 图谱，不能作为直接认定犯罪嫌疑人的证据，也不能入 DNA 数据库进行查找比对。因此，如何快速、准确、自动化地获得混合样品中不同供者的 DNA 分型图谱是目前法医 DNA 检验领域研究的热点和难点之一。

目前，解决混合生物样本问题主要着重于以下 3 个方面：常规 DNA 检验后人工分离或利用计算机软件进行分离；实验阶段不同来源的组分进行分离；采用特定试剂盒对目标组分进行检验。

1　常规 DNA 检验后人工分离或利用计算机软件进行分离

常规 DNA 检验后得到的混合图谱，如果确定是两人混合，则可通过二进制的方法，在有经验的专家结合应用诸多数值参考标准，能够对混合结果进行人工判读，但这种方法对于三人及三人以上混合的样本无法适用。Clayton 等曾对混合结果分析的数值参考标准做出总结，包括杂合子均衡性规则、混合构成比或混合比率规则等，整个分析过程需要先单独对各个基因座考察，然后基因座之间进行综合考虑。Kirkham 对已知混合比例的样本研究发现，在一些基因座的混合比例估计值有差异，最高达 0.35，Buckleton 等人也观察到相似的现象并在 2004 年的国际法医遗传学学会（ISFG）上做出报告。之后，Gill 等也指出在日常案件检验时如果应用该混合样本数值参考标准，需要对其各个变量参数如杂合子均衡性、混合比例等进行广泛而深入的验证，确定预期公差，才能更好分析混合样本。Tvedebrink 等报道了利用一种有效的数学方法以发现两人或三人 DNA 混合分型的最佳匹配组合，通过计算似然比率（LR）确定混合样本的定量信息。由于随机效应产生的等位基因丢失以及非特异性扩增产生的 stutter 峰，都会造成混合样本拆分困难。Puch-Solis 等对 SGMPlus 系统的研究发现，通过合并来自多个数据源的数据构建一个统计学模型，计算未知供者的似然比率，通过融合等位基因峰值高度来减少随机效应的影响。Cowell 等也通过从 DNA 混合分型图谱中获得的峰值定量信息（包括非特异性扩增峰值）来建立统计学模型，通过计算最大似然比、近似标准误差，以贝叶斯网络形式显示模型，同时利用该统计学模型对一例混合样本案件进行有效而准确的分析。除了人工构建统计学模型，一些商业化的自动计算拆分混合 DNA 图谱的软件也越来越多的出现，如国外 AB 公司的 ID-X，英国 FSS 的 FSS I3，国内公安部物证鉴定中心的 MIAS 软件等。但是，这些混合图谱拆分方法存在的最大缺陷是，当没有比对样品做参照的情况下，结果很难被完全采信。

2　实验阶段不同来源的组分进行分离

对于性侵案件中常见的阴道擦拭物或其他载体如内裤、床单等遗留的混合精斑检材，通常采用差异裂解法处理，首先消化女性上皮细胞，剩余的精子细胞再次消化即得到单一成分的男性分型，该方法虽然比较成熟，也有商业试剂盒可用，但整个 DNA 提取过程需要反复离心和转移液体，耗时费力，并且当女

性上皮细胞量多、精子细胞量少的情况下，样品损失较多，同时女性 DNA 的干扰也难以完全去除干净。

对不同组分先分离后检验，还可以采用单细胞分离检验技术，其在法医学中的研究报道已较多，主要技术平台有两种：显微操作仪技术平台和激光捕获显微切割技术平台（Laser Capture Microdissection，LCM），以上两种平台均可结合芯片-低体积 PCR 扩增（on-chip Low Volume-Polymerase Chain Reaction，LV-PCR）系统，在很小的 PCR 体系中使 DNA 模板与引物和聚合酶结合的机会明显提高，使微量细胞甚至单个细胞进行 DNA 分型变为现实，不仅提高检测灵敏度，而且拓宽检验范围，为混合、微量检材的检测带来了新的曙光。基于普通显微操作仪的技术平台，比较适合对口腔上皮细胞进行分离和检验，如强奸受害人皮肤上留下的唾液斑，通过在镜下分辨有核的口腔上皮细胞（常来自犯罪嫌疑人）和无核角化的上皮细胞或细胞碎片（常来自受害者皮肤），捕获目的细胞进行 PCR 扩增并检测，从而获得犯罪嫌疑人的单一 STR 分型，进行同一性认定。早在 1997 年 Findlay 等首次利用显微操作分离出单个细胞，通过优化 PCR 条件复合扩增出 7 个位点的 STR 图谱，将同一个体的单个细胞和多个细胞的 STR 分型图谱比较，发现分型结果无显著性的差异。基于激光捕获显微切割的技术平台，该平台目前主要用于处理女性成分较多、差异裂解法无法消除女性成分干扰的混合精斑检材，通过在镜下寻找并捕获精子细胞进行 PCR 扩增并检测。2003 年，Elliott 等对比了 LCM 方法和优先裂解法这两种从阴道上皮细胞和精液的混合物中分离精子的方法，结果表明 LCM 方法明显优于优先裂解法。一些学者也将该技术应用于混合血斑和唾液斑检材的分离检验。Belinda 等对按照不同比例混合的血液和唾液样本，分别使用常规 DNA 提取方法和 PALM 激光显微切割系统进行分离和检验，结果显示前者仅能获得混合分型，而后者可获得单一供者的 STR 分型。我国也已经开展了这方面的研究工作，如公安部物证鉴定中心利用以上两种单细胞分离平台，分别对混合精斑和混合唾液斑等各种不同检材进行了细胞分离与分析研究。之后，将 LCM 技术与荧光原位杂交技术（Fluorescence in Situ Hybridization，FISH）相结合，实现男女性混合生物样本的精确分离和检验。综合来看，单细胞分离检验技术也存在一些弊端，如仪器系统复杂昂贵，耗材成本高，对实验室条件要求也高；需要手工操作，对实验人员要求具有经验高，而且当目标细胞稀少时，寻找过程很费时费力，尽管 PLAM 系统有自动查找软件功能，但准确率不高。

另外，流式细胞技术由于能够对大量单个细胞采用一组参数进行高通量的自动量化分析与分选，故在科研和医疗等领域成为一种广泛使用的细胞分离技术。目前，最为先进的 BD FACSAria Ⅲ流式细胞仪最多可以装配六色激光，同时检测多达 18 种不同参数来区分不同类型的细胞，分离速度达到 105 个细胞/秒。早在 1992 年 Zhang 等利用流式细胞仪分离出了单个精子细胞，并对其 12 个 VNTR 和 STRs 位点进行了检测，一定程度上证明了该方法的可行性。但到目前为止，该技术在法医学领域的应用仍然少见报道。可能的原因是流式细胞仪价格昂贵、操作复杂、维护成本高，体系开放容易产生交叉污染，而且细胞的荧光标记和分离后的 DNA 提取步骤烦琐。如果能克服这些问题，流式细胞技术在法医领域将会具有很好的应用前景。从 90 年代逐渐发展起来的微流控技术可以有效解决困扰流式细胞技术的上述问题。微流控技术是利用微细加工方法，在纳升甚至皮升量级上，将生化反应与分析微缩集成于一张几平方厘米的芯片上，形成微型全分析系统（Micro Total Analysis Systems，μTAS）。与传统分析方法相比，其具有体积小、样品消耗少、分析成本低、易于实现操作集成化和自动化等诸多优势。在过去的几年中，微流控技术已被用于法医 DNA 检验的细胞分离上，但主要集中在混合斑样品的处理。2005 年，Landers 研究小组开发了一种利用精子更易于随流体流动的特性达到分离目的的微流体芯片。之后 2009 年，该小组又开发出利用超声力将精子细胞从上皮细胞中分离提取出的微流控芯片。基于微流控芯片的流式细胞分选系统已屡见不鲜，按分离驱动形式分为光压力、介电力、磁力、压电力和流体切换等，比较成熟的是 Singh 研究小组开发的利用激光产生的光压力进行细胞分选的技术。以上都只是孤立的分选芯片，没有实现与上游样品标记和下游 DNA 提取部分相集成，2011 年，Liu 等成功将 FISH 技术与流式细胞检测集成在一块微流控芯片上，实现了对细菌样品的自动化快速荧光标记和流式细胞计数，该研究为处理法医混合样品提供了可行性。

3 采用特定试剂盒对目标组分进行检验

对于混合样本，有时可以不需对所有的组分进行分离，采用特定的试剂盒对目标组分进行分
验，如目前针对实战中的强奸案、轮奸案中混合样本，利用 Y-STR 试剂盒进行检验。Rothe 研究组
出一种单倍型特异性提取法（HSE），利用 Yfiler 试剂盒将男性单倍型从 DNA 混合样本中分离出
之后 2015 年该小组利用标记着等位基因特异性探针的磁珠，将物理分离与 Y 染色体单倍型方法相
合成功分离男性混合 DNA。Shrestha 等介绍了一种将常染色体 STR 标记和 Y-STR 单倍型相结合的
法评估混合样本。公安部物证鉴定中心课题组提出一种新颖的分离 3 人混合精子的方法，首先利用
细胞分离技术分离出单个精子，以 Y-STR 作为区分不同供者的标签，再根据常染色体 STR 分型确
最终个体分型。利用 Y-STR 能够分离多个男性 DNA 混合物，但由于不是所有Y-STR 位点均是单
型，某些位点会出现 2 个等位基因，如常见的 DYS385，因此，Y-STR 分型中只要在某个位点出现
稀有型的多个等位基因，或者不同供者具有共同的单倍型，那么对混合结果的分析应该慎重。

【参考文献】

[1] Jobling M. A., Gill P.. Encoded evidence: DNA in forensic analysis [J]. Nat Rev Genet, 2005, 5 (10): 739-751.

[2] Butler J. M.. Forensic STR typing: biology, technology and genetics of STR markers [M]. 2nd ed. 2005, New York: Elsevier.

[3] 党华伟，毛炯，王惠，等. 疑难生物检材法医 DNA 检验的现状与进展 [J]. 法医学杂志，2012，28（1）: 52-54.

[4] Bright J. A., Turkington J., Buckleton J.. Examination of the variability in mixed DNA profile parameters for the IdentifilerTM multiplex [J]. Forensic Sci Int Genet, 2010, 4 (2): 111-114.

[5] Clayton T., Whitaker J. P., Sparkes R. L., et al.. Analysis and interpretation of mixed forensic stains using DNA STR profiling [J]. Forensic Sci Int. 1998, 91: 55-70.

[6] Kirkham A.. FSS Internal Data, 2002.

[7] Buckleton J. S., Triggs C. M., Walsh S. J.. Forensic DNA evidence interpretation [M]. Boca Raton 2004, CRC Press.

[8] Gill P., Brenner C. H., Buckleton J. S., et al.. DNA commission of the International Society of Forensic Genetics: recommendations on the interpretation of mixtures [J]. Forensic Sci Int, 2006, 160: 90-101.

[9] Tvedebrink T., Eriksen P. S., Mogensen H. S., et al.. Identifying contributors of DNA mixtures by means of quantitative information of STR typing [J]. J Computational Molecule Cell Bio, 2012, 19 (7): 887-902.

[10] Puch-Solis R., Rodgers L., Mazumder A., et al.. Evaluating forensic DNA profiles using peak heights, allowing for multiple donors, allelic dropout and stutters [J]. Forensic Sci Int Genet, 2013, 7 (5): 555.

[11] Cowell R. G., Graversen T., Lauritzen S. L., et al.. Analysis of forensic DNA mixtures with artefacts [J]. J Royal Statistical Society, 2015, 64 (1): 1-48.

[12] Yoshida K., Sekiguchi K., Mizuno N., et al.. The modified method of two-step differential extraction of sperm and vaginal epithelial cell DNA from vaginal fluid mixed with semen [J]. Forensic Sci Int, 1995, 72 (1): 25-33.

[13] Li C. X., Han J. P., Ren W. Y., et al.. DNA profiling of spermatozoa by laser capture microdissection and low volume-PCR [J]. Plos One, 2011, 6 (8): e22316.

[14] Findlay I., Taylor A., Quirke P., et al.. DNA Fingerprinting from Single Cells [J]. Nature, 1997 (389): 555-556.

[15] Elliott K., Hill D. S., Lambert C., et al.. Use of laser microdissection greatly improves the recovery of DNA from sperm on microscope slides [J]. Forensic Sci Int, 2003, 137 (1): 28-36.

[16] Belinda A., Roland van O., John M., et al.. Isolating cells from non-sperm cellular mixtures using the PALM microlaser micro dissection system [J]. Forensic Science International, 2007, 173 (2-3): 93-96.

[17] 任文彦，李彩霞，黄江平，等. PALM 结合低体积扩增技术在混合斑检验中的应用 [J]. 证据科学，2010，18（1）: 102-109.

[18] 黄江平，李彩霞，亓冰，等. 显微捕获技术结合低体积扩增技术在混合唾液斑检验中的应用 [J]. 吉林公安高等专科学校学报，2010，(1): 49-54.

[19] 朱典，李彩霞，黄江平，等. 龙胆紫染色法在显微捕获单细胞分离技术中的应用 [J]. 中国法医学杂志，2011，29（3）: 18-20.

[20] 韩俊萍，李彩霞，杨帆，等. 单细胞分离荧光原位杂交法用于男女混合血 DNA 分型 [J]. 中国法医学杂志，2012，27（01）: 22-24.

[21] 赵婵娟，袁粒星，童煜. 流式细胞仪及其在医学研究中的应用 [J]. 中外医学研究，2016，14（22）: 160-162

[22] Zhang L., Cui X., Schmitt K., et al.. Whole genome amplification from a single cell: an implications for genetic analysis [J]. Porc Natl Acad Sci USA, 1992, 89 (13): 5847-5851.

[23] Horsman K. M., Bienvenue J. M., Blasier K. R., et al.. Forensic DNA analysis on microfluidic devices: A review [J]. J Forensic Sci, 2007, 52 (4): 784-799.

[24] Liu, P., and Mathies, R. A., Integrated microfluidic systems for high-performance genetic analysis. Trends in Biotechnol., 2009. 27 (10): 572-581.

[25] Horsman K. M., Barker, S. L. R., Ferrance, J. P., Forrest, K. A., Koen, K. A., and Landers, J. P., Separation of sperm and epithelial cells in a microfabricated device: Potential application to forensic analysis of sexual assault evidence [J]. Anal Chem, 2005. 77 (3): 742-749.

[26] Norris, J. V., Evander, M., Horsman-Hall, K. M., Nilsson, J., Laurell, T., and Landers, J. P., Acoustic differential extraction for forensic analysis of sexual assault evidence [J]. Anal Chem, 2009, 81 (15): 6089-95.

[27] Perroud T D, Kaiser J N, Lane J C, et al. Microfluidic-based cell sorting of Francisella tularensis infected macrophages using optical forces [J]. Anal Chem, 2008, 80 (16): 6365-6372.

[28] Voldman, J., Gray, M. L., Toner, M., and Schmidt, M. A., A microfabrication-based dynamic array cytometer [J]. Anal Chem, 2002, 74 (16): 3984-3990.

[29] Pamme, N. and Wilhelm, C., Continuous sorting of magnetic cells via on-chip free-flow magnetophoresis. Lab on a Chip, 2006, 6 (8): 974-980.

[30] Cho S. H., Chen C. H., Tsai F. S., et al.. Human mammalian cell sorting using a highly integrated micro-fabricated fluorescence-activated cell sorter (mu FACS) [J]. Lab Chip, 2010, 10 (12): 1567-1573.

[31] Wolff, A., Perch-Nielsen, I. R., Larsen, U. D., Friis, P., Goranovic, G., Poulsen, C. R., Kutter, J. P., and Telleman, P., Integrating advanced functionality in a microfabricated high-throughput fluorescent-activated cell sorter [J]. Lab Chip, 2003, 3 (1): 22-27.

[32] Liu P., Meagher R. J., Ligh Y. K., et al.. Microfluidic fluorescence in situ hybridization and flow cytometry (muFlowFISH) [J]. Lab Chip, 2011, 11 (16): 2673-2679.

[33] Rothe J., Roewer L., Nagy M.. Individual specific extraction of DNA from male mixtures--First evaluation studies [J]. Forensic Sci Int Genet, 2011, 5 (2): 117.

[34] J. Rothe, M. Nagy. Separation of Y-chromosomal haplotypes from male DNA mixtures via multiplex haplotype-specific extraction [J]. Forensic Sci Int Genet, 2015, 19: 223-231.

[35] Shrestha S., Smith M. W., Beaty T. H., et al.. Theory and methodology for utilizing genes as biomarkers to determine potential biological mixtures. Ann Epidemiol 2005; 15: 29-38.

[36] Han J. P., Yang F., Zhao L., et al.. A new strategy for sperm isolation and STR typing from multi-donor sperm mixtures [J]. Forensic Sci Int Genet, 2014, 13 (8): 239-246.

AmpFlSTR identifiler Plus PCR Amplification 试剂盒 TH01 基因座和 D13S317 基因座间 off ladder 的精准认定

苏晓伟，王　珂，李兴业，彭　诚，尚雷鹏

（北京市公安局海淀分局刑侦支队技术队 DNA 实验室，100142）

短串联重复序列（Short Tandem Repeats，STR），又称微卫星 DNA 或简单重复序列（Simple Sequence Repeats，SSR），是目前法医物证检验中应用最广泛的长度多态性遗传标记。等位基因分型

标准物（Allelic ladders）是指某一 STR 基因座在人群中常见的等位基因的混合物。等位基因分型标准物相当于每一个等位基因的量尺，能够校正不同实验室因为仪器和检测条件等外在因素产生的误差。等位基因分型标准物是参考基因组 DNA 或人群中多个个体的基因座特异性 PCR 产物联合组成，其中应该包含特定 STR 基因座的所有等位基因。但是，在商品化试剂盒生产过程中，由于参考种族选样误差等原因的影响，造成等位基因分型标准物在个别基因座的稀有等位基因缺失，尤其是基因座间 off ladder 的辨别，对鉴定结论非常重要，因此，对于检验鉴定中遇到 off ladder 情况要综合分析峰型、位置，排除因为等位基因分型标准物采样不全导致的分型错误，对于产生原因有质疑的 off ladder 可以联合应用多试剂盒检验，做到检验结果精准。

1 材料和方法

样本为北京市公安局海淀分局刑侦支队 DNA 实验室 2014 年 12 月至 2017 年 3 月收检血样中经 Identifiler Plus（ABI）系统检测出现 TH01 基因座和 D13S317 基因座间 off ladder 的血样 16 例，16 例样本的 off ladder 出现在 TH01 基因座后 D13S317 基因座前，根据峰型、峰面积分析排除 stutter 峰和渗透峰等杂峰。

用 Chelex-100 法提取送检检材的 DNA，经聚合酶链式反应（Polymerase Chain Reaction，PCR）方法复合扩增多个 STR 基因座，试剂盒选用 AmpFlSTR identifiler Plus PCR Amplification Kit，ABI 和 PowerPlex 21 System kit，Promega，用 AB-3130XL 全自动遗传分析仪进行基因分析。

2 结果

从图 1 中可见，样本在选用 Identifiler Plus（ABI）系统 STR 分析过程中，在 D13S317 基因座 ladder 范围外侧出现一个峰，可明显区别于常见杂峰，因此考虑此峰应该为 off ladder。从图 2 中可见，将样本选用 PowerPlex 21 System 二次分析后，可以确定 D13S317 基因座的正确数据。

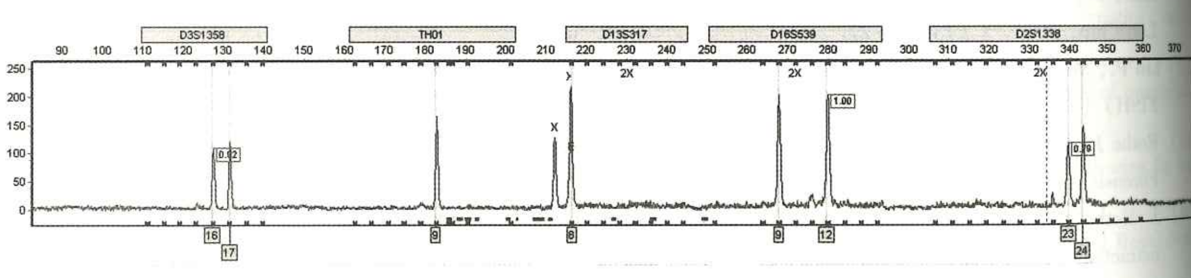


图 1 AmpFlSTR identifiler Plus PCR Amplification Kit D13S317 基因座检验结果

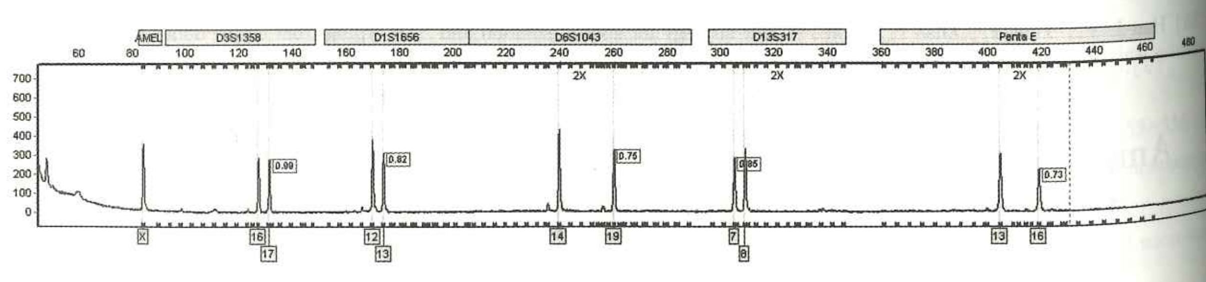


图 2 PowerPlex 21 System kit D13S317 基因座检验结果

3 结论

样本经 AmpFlSTR identifiler Plus PCR Amplification Kit 在 TH01 基因座和 D13S317 基因座间出现 off ladder，经过 PowerPlex 21 System kit 二次检验确定 D13S317 基因座的 off ladder 为稀有等位基因，最终对样本准确分型。

4 讨论

等位基因分型标准物是 DNA 检验过程中标记目的 DNA 片段的量尺，不同商品化试剂盒生产过程中由于采样的误差可能造成人群中的一些等位基因不在 ladder 范围内，导致出现 off ladder，此种 off ladder 需要和分析过程中产生的 stutter 峰和渗透峰等杂峰相鉴别，单纯的删除此类 off ladder 会导致分型的误差，对样本认定的似然比率及亲缘关系的鉴定结论产生影响。本试验中，我课题小组收集 AmpFlSTR identifiler Plus PCR Amplification Kit 在 TH01 基因座和 D13S317 基因座间出现 off ladder 的样本，仔细比较发现此处 off ladder 峰值较正常峰相差较少，该 off ladder 峰面积较大，远远大于主峰面积的 15%，而且 AmpFlSTR identifiler Plus PCR Amplification Kit D13S317 基因座 ladder 范围 8~15，此处 off ladder 出现在 AmpFlSTR identifiler Plus PCR Amplification Kit D13S317 基因座 ladder 范围前面 4bp 的位置，因此认为此 off ladder 应该是该试剂盒 ladder 制作过程中稀有等位基因的采样缺失导致，此 off ladder 不能直接删掉，我课题组选择 ladder 范围与 identifiler Plus 试剂盒不同的 PowerPlex 21 System kit 二次检测，从而确定此 off ladder 的具体分型。因此，对于此种特异性 off ladder 的认定，需要认真分析，同类 off ladder 需要换用不同范围 ladder 的试剂盒对样本重复检验，精准认定此等位基因。

【参考文献】

[1] 侯一平. 法医物证学［M］，北京：人民卫生出版社，2005：76.

[2] Sajanrila A.. Amplification of reproducible allele markers for amplified fragment length polymorphism analysis［J］. Biotechniques, 1992（12）：16-22.

[3] Baechtel F. S.. Multigenerationtal amplification of a reference ladder for alleles at locus D1S80［J］. Journal of Forensic Science，1993（38）：1176-1182.

浅谈 502、茚三酮、DFO 等常用指印显现方法对汗潜指印中 DNA 检出率的影响

平爱华

（天津市公安局南开分局物证鉴定所，300384）

1 汗潜指印的法庭证据作用

作为认定人身的一种重要方式，和当代法庭科学中的一项重大突破，1997 年，Oorschot 等首次在指印上提取到了微量的接触 DNA。之后，如郝金萍等的大量实践证明，利用汗潜指印中的 DNA 进行 STR 检验，具有一定的成功率，并且已经在实践中得到有效应用。

由于汗潜指印兼具痕迹物证和生物物证的双重属性，为了充分发挥其法庭证据功能，在实际工作中，往往要求先进行破坏性较小的指印显现，后进行破坏性较大的 DNA 实验室检验。另外，作为极具价值的微量物证之一，汗潜指印中的 DNA 本已属痕量。在指印显现工作中，能否避免指印中 DNA 的进一步破坏和损失，是影响指印 DNA 检出率的重要因素之一。

2 常用汗潜指印显现方法对汗潜指印中微量 DNA 的影响

目前，主要的汗潜指印显现方法包括茚三酮显现法、DFO 显现法、“502”胶熏显法等。郑秀芬

等的实验表明铝粉、茚三酮（丙酮溶液）、DFO（叠氮荧光染料）等显现的汗潜指纹，对进一步检验无影响。高婧宇等则研究了“502”胶显现指纹后对脱落细胞 DNA 提取的影响。从图谱的结果来看，经“502”熏显后的检材样本 DNA 的含量，较未经熏显的样本并没有显著差异，均能得理想的 STR 分型，“502”胶未对检材的 DNA 含量及检出产生明显影响。上述研究未记载具体的现温度、湿度、时间以及操作方法等，但能够说明“502”胶、茚三酮、DFO 等显现试剂本身并未对后期的 DNA 实验室提取工作产生比较明显的直接影响。

然而，针对每一种指印显现试剂和显现方法，其具体的实现手段和途径是多样的；不同的操作的操作行为之间也存在个体差异。在实际工作中，为了提高显现试剂与汗潜指印之间的结合能力，高显现速度，加强显现效果，操作人员往往会在基本指印显现原理的基础上，积极探索显现环境、作手段和显现时间的改变对显现结果的影响。首先，如进行高温、高湿处理等，可以明显加快显现度，反应更灵敏；其次，贴敷、浸泡、涂抹和喷洒等操作方法可以有效增加待显现区域的试剂密度使显现试剂与手印物质能够充分接触、反应更加完全，从而促进显现试剂对汗潜指印的作用；最后显现时间的适当延长，则有利于显现试剂与汗潜指印的充分结合。为了进一步增强显现效果，一些现方法还要求进行重复性的“二次显现处理”操作。事实证明，这些显现方法在一定程度上改变了显现环境和操作流程，提高了显现效率，但是却可能导致汗潜指印中 DNA 的损失。例如，郝金萍等通过研究比较溶液浸泡法、涂抹法和喷雾法等茚三酮显现法显现汗潜指印对后续 DNA 检测带来的影响，提示显现后的指印 DNA 量出现了减损，尤以冲击性较大的喷雾法为甚。作者分析其减损原因是于显现过程中的操作行为所致的细胞脱落及转移。

2.1 汗潜指印显现过程中的操作行为对微量 DNA 的影响

汗潜指印中包含水、油脂、蛋白质、多肽、氨基酸、无机盐类、脱落细胞和游离 DNA 等物质。一般来说，指印中的脱落细胞等生物成分与其载体并非有机结合，而是仅仅依靠附着作用存在于载体表面。在指印显现过程中操作性外力的作用下，脱落细胞和其他微量生物成分与其载体之间容易发生相对运动和分离，并最终导致 DNA 损失。在茚三酮显现法中，浸泡、涂抹和喷雾操作，可以在一定程度上破坏指印成分对其载体的附着作用，致使包含脱落细胞或游离 DNA 等的部分指印成分脱离其载体。事实上，其他一些主要指印显现方法中，因操作原因，也容易发生脱落细胞乃至 DNA 的脱离和减损。在 DFO 显现法的操作过程中，需要将指印载体放入有机溶剂中反复浸润，这种操作难免会造成溶剂对指印成分的溶解、稀释和冲刷，导致脱落细胞等部分生物成分从其载体上脱离。另一种典型的操作是，利用“502”胶浸润过的滤纸直接贴敷指印载体，可以明显地加速指印显现的过程，然而在滤纸表面“502”胶的强力黏附作用下，指印中的部分生物成分与其载体的分离几乎是不可避免的。

2.2 汗潜指印显现过程中的高温高湿环境对微量 DNA 的影响

指印类生物物证中的 DNA 在较长时间的高温高湿环境下，容易产生破坏和降解。DNA 的双螺旋结构对整个分子具有一定的保护作用。然而，在大于 70℃ 的温度条件下，DNA 容易达到解链温度而发生热变性，破坏其双螺旋结构；在高湿环境中，游离态水的存在会直接促进已经解螺旋的 DNA 分子的发生水解反应，致使 DNA 分子降解。高温和高湿因素在 DNA 分子的破坏降解过程中尚存在协同作用。因此，指印显现过程中的高温高湿环境对指印中 DNA 的影响不可忽视。例如，在利用“502”胶进行熏显的过程中，为了促进试剂分子升华，加速加强熏显效果，经常需要加温至较高的温度，部分方法甚至高达 230℃，并且要求具有较高的湿度。再如，茚三酮在 80℃ 和 80% 的相对湿度情况下具有较好的显现效果。在 DFO 显现法的操作过程中则需要反复浸润及干燥，并且往往需要 70℃ 以上甚至 100℃ 的加热处理。上述几种方法中，均需要较高的温度和湿度条件，因此难免会对汗潜指印中的 DNA 分子产生影响。

2.3 汗潜指印显现时间的延长对微量 DNA 的影响

汗潜指印中的脱落细胞，受内源性核酸酶和溶酶体破裂后释放的各种水解酶的作用，以及局部存在的螨虫、细菌、真菌等微生物的消化作用，DNA 逐渐出现降解；同时，亦会在氧化、辐射、紫外等非需作用下，出现断裂、交联和二聚体形成等损伤表现。目前的研究证实，在较短的时间内，观察到不同组织的 DNA 含量均随着死亡时间延长逐渐下降，并呈一定的线性相关性。因此，显现时间对指印中的微量 DNA 成分的影响不可忽视。显现时间的延长，会在一定程度上增加汗潜指印中 DNA 降解和破坏的概率，进而影响其检出率。为了避免 DNA 损失，汗潜指印应当遵循“及时检验”的检验原则，及早进行检验。

3 结论

在实际检验工作中，需要辩证地看待不同的指印显现方法对汗潜指印 DNA 可能会产生的影响。汗潜指印既属于痕迹物证，也属于生物物证，更属于微量物证。在汗潜指印的显现过程中，应当综合看待这三种属性，不可单独地追求指印显现效果，而忽略了对其微量生物物证这种重要属性的重视。在排除了不同显现试剂本身对 DNA 检出率的影响的前提下，不应当忽视显现环境条件的改变和不同的具体操作手段以及较长的显现时间，对 DNA 等生物成分可能产生的影响。在确定具体的汗潜指印显现策略时，要关注各种显现方法中温度与湿度的上升程度是否足以导致指印 DNA 变性和降解；注意是否存在容易导致指印中生物成分与载体脱离的具体操作；关注部分显现液体对汗潜指印中生物成分的溶解性和稀释性；在满足显现要求的前提下，对比各种显现方法对时间长短的要求，从而综合考虑，选择合适的显现方法。

综上所述，尽量规避或者替换指印显现方法中可能造成 DNA 损失的操作，科学选择合适的显现方法，并且尽量缩短显现时间，可以在一定程度上避免汗潜指印中 DNA 的损失。在科研工作中，还应当进一步探索对于汗潜指印等微量生物物证中的降解 DNA 成分的有效检验方法和技术，通过研究提高对汗潜指印中 DNA 成分的保护能力；同时，继续寻找显现效果更灵敏、对显现条件要求更低的无损显现试剂，从而充分发挥汗潜指印作为痕迹物证和生物物证的双重法庭证据的重要作用。

【参考文献】

[1] R. A. van Oorschot, M. K. Jones. DNA fingerprints from fingerprints [J]. nature, 1997, 387 (6635): 767.
[2] 郝金萍，邵丽芳，刘开会，等. 纸张上汗潜指印 DNA-STR 检验成功率分析 [J]. 中国法医学杂志，2013，28 (5)：418-419.
[3] 郑秀芬，刘寰，程建波，等. 已显现指纹的 DNA-PCR 检验 [J]. 刑事技术，1998 (1)：1-3 页.
[4] 高婧宇，梁克伟，李鹏飞，等. “502”胶显现指纹后对脱落细胞 DNA 提取的影响研究 [J]. 中国刑警学院学报，2014.2 · 法医检验：52-53.
[5] 李季. 加热 502 胶熏显手印的改进方法 [J]. 刑事技术，2005 (6)：9-12.
[6] 胡涌. 502 胶控制湿度贴显法显现皮革面上手印 [J]. 刑事技术，2004 (5)：26-27.
[7] 张剑，龚道安. 显现疑难潜指印的新方法——“502”滤纸贴显法 [J]. 刑事技术，1991 (2)：29-32.
[8] 郝金萍，邵丽芳，朴相杰，等. 茚三酮显现汗潜指印的三种操作方法对 DNA 检测的影响 [J]. 刑事技术，2013 (2)：35-37.
[9] 李康，周亮，贡献，等. 新型荧光 502 粉末显现手印的最佳温湿度探究 [J]. 湖北警官学院学报，2014 (1)：169-172.
[10] 熊晓波，尹国祥，张剑，等. 茚三酮超声雾化显现潜在手印研究 [J]. 湖北警官学院学报，2012 (12)：169-170.
[11] 王坤，周介平. 茚三酮与 DFO 显现纸张上指印的方法比较 [J]. 刑事技术，2013 (5)：52-55.
[12] 王嘉川，王嘉枭，张杰，等. DFO 显现信纸上指纹并利用汗孔特征鉴定 1 例 [J]. 刑事技术，2010 (1)：48.
[13] 张志宏，袁雅洁. 核酸与死亡时间的相关性及其检测方法 [J]. 中国司法鉴定，2013 (1)：95-97.

山西大同地区人群 24 个 Y-STR 基因座遗传多态性研究

郭志芳[1]，邓　刚[1]，马晓佳[2]

（1. 山西省大同市公安局刑侦支队，037000；2. 山西医科大学 2012 级法医系，037000）

Y 染色体短串联重复序列（Y-chromosomal Short Tandem Repeats，Y-STR）因其单倍型父系遗传的特点，使之在人类起源、进化和群体划分研究及法医学实践中具有重要的应用价值，尤其是在法医物证学鉴定中，如家系排查、亲缘搜索、个体识别及混合斑男性个体分型中更具有独特的优势。由于遗传上的特殊性，Y-STR 基因座的多态性通常低于同等数目常染色体 STR 基因座，且 Y- STR 基因座的多态性在不同人群的差异也远远高于常染色体基因座。因此在实际应用中尽可能联合检测多个 Y-STR 基因座获得系统高的鉴定能力，是进行群体遗传学研究和法医学应用的前提和基础。

本文采用 AGCU-24Y- STR 荧光复合直接扩增试剂盒，对山西大同地区 1209 名无关男性个体进行遗传多态性调查，为该群体的法医学应用、遗传关系的分析提供基础数据，从而进一步完善我国 Y 染色体群体遗传信息资源。

1　材料与方法

1.1　样本来源

1209 个血样均采自于山西大同地区无亲缘关系的无偿志愿捐血者。

1.2　PCR 扩增

采用 AGCU-Y24-STR 荧光复合直接扩增试剂盒（无锡中德美联生物技术有限公司，江苏无锡）对样本进行直扩。PCR 扩增体系参照试剂盒说明书。扩增循环参数：95℃ 预变性 5min，94℃ 变性 1min，60℃ 退火 1min，72℃ 延伸 1min，共 10 个循环；90℃ 变性 1min，58℃ 退火 1min，72℃ 延伸 1min，共 20 个循环；最后 60℃ 延伸 60min，4℃ 保存。

1.3　Y-STR 分型

取 1μL 扩增产物加入适量甲酰胺，95℃ 变性 3min。采用 Data Collection 3.0 和 GeneMapper 3.2 软件收集分析数据，得到 Y-STR 的分型结果。

1.4　数据统计分析

各基因座的等位基因频率与单倍型检出频率用直接计数法计算，基因多样性（Gene Diversity，GD）及单倍型多样性（Haplotype Diversity，HD）按公式 $GD=n(1-\sum Pi^2)/(n-1)$（Pi 为等位基因或单倍型频率，n 为样本数）计算。

2　结果

用荧光标记复合的方法对山西大同地区的 1209 个无关男性个体进行 24 个 Y-STR（DYS19，DYS389 Ⅰ，DYS389 Ⅱ，DYS390，DYS391，DYS392，DYS393，DYS385a/b，YGATAH4，DYS439，DYS438，DYS437，DYS448，DYS456，DYS458，DYS635，DYS449，DYS447，DYS388，DYS522，DYS444，DYS527a/b）基因座遗传学研究，共检出 1209 个单倍型。由于检测基因座较多，尚未发现相同单倍型，单倍型多样性（HD）达到 1.0000，表明该系统具有较强的非父排除能力和较强的个体差异。

各基因座的等位基因频率及基因多样性值（GD）见表 1。24 个 Y-STR 基因座等位基因频率分布在 0.0084~0.7719，GD 值在 0.3748（DYS391）~0.9705（DYS385a/b），其中除了 DYS391（GD=0.3748）、DYS437（GD=0.4855）、DYS438（GD=0.4834）在山西大同地区人群中识别能力较低外，其余 21 个基因座的 GD 值均大于 0.5，在山西大同地区群体中具有丰富的遗传多样性和较高的个人识别能力。另外，DYS385a/b 和 DYS527a/b 为多拷贝基因座，DYS385a/b 基因座共检出 83 种单倍型，其中包括 3 个三拷贝单倍型（13/16/18；13/16/17；14/19/20）和 2 个四拷贝单倍型（11/13/17/18；12/13/19/21）；DYS527a/b 基因座共检出 54 种单倍型，其中包括 6 个三拷贝单倍型（19/20/21；19/20/22；19/21/23；20/22/25；21/22/23；21/23/24）。研究中，我们还发现，几个基因座均出现稀有等位基因，如 DYS389I 的稀有等位基因 8.3，DYS392 的稀有等位基因 10.2，尤其是 DYS458 基因座出现多个稀有等位基因 14.1、16.2、18.2、19.2，说明该基因座在山西大同地区具有丰富的基因多态性。

表 1　山西大同地区无关男性 24 个 Y-STR 基因座等位基因频率及基因多样性（$n=1209$）

DYS19　GD=0.7141			DYS388　GD=0.5021		
等位基因（A）	频数	频率（F）	等位基因（A）	频数	频率（F）
11	1	0.000838	10	183	0.15301
12	1	0.000838	11	6	0.005017
13	66	0.055323	12	808	0.675585
14	290	0.243085	13	160	0.133779
15	496	0.415759	14	29	0.024247
16	260	0.217938	15	6	0.005017
17	75	0.062867	16	3	0.002508
18	4	0.003353	17	1	0.000836

DYS389I　GD=0.6414			DYS390　GD=0.6908		
等位基因（A）	频数	频率（F）	等位基因（A）	频数	频率（F）
8.3	1	0.000835	20	1	0.000835
9.3	1	0.000835	21	13	0.01086
10	2	0.001671	22	74	0.061821
11	11	0.00919	23	487	0.40685
12	577	0.482038	24	400	0.334169
13	351	0.293233	25	202	0.168755
14	241	0.201337	26	16	0.013367
15	13	0.01086	27	4	0.003342

DYS389II　GD=0.7551			DYS392　GD=0.7652		
等位基因（A）	频数	频率（F）	等位基因（A）	频数	频率（F）
25	1	0.000835	7	5	0.004198
26	9	0.007519	10	11	0.009236
27	95	0.079365	10.2	1	0.00084
28	388	0.324144	11	194	0.162888
29	362	0.302423	12	170	0.142737
30	231	0.192982	13	353	0.29639
31	85	0.071011	14	371	0.311503
32	22	0.018379	15	70	0.058774
33	3	0.002506	16	12	0.010076
34	1	0.000835	17	4	0.003359

DYS391	GD=0.3748	
等位基因（A）	频数	频率（F）
6	7	0.005848
8	2	0.001671
9	56	0.046784
10	924	0.77193
11	198	0.165414
12	10	0.008354

DYS438	GD=0.4834	
等位基因（A）	频数	频率（F）
8	2	0.001671
9	26	0.021721
10	803	0.670844
11	304	0.253968
12	52	0.043442
13	10	0.008354

DYS393	GD=0.6465	
等位基因（A）	频数	频率（F）
7	1	0.000838
11	5	0.004188
12	601	0.50335
13	310	0.259631
14	207	0.173367
15	68	0.056951
16	2	0.001675

DYS439	GD=0.6757	
等位基因（A）	频数	频率（F）
9	2	0.001671
10	76	0.063492
11	495	0.413534
12	436	0.364244
13	153	0.12782
14	34	0.028404
15	1	0.000835

DYS437	GD=0.4855	
等位基因（A）	频数	频率（F）
13	7	0.005848
14	750	0.626566
15	418	0.349206
16	21	0.017544
17	1	0.000835

Y_ GATA_ H4	GD=0.6142	
等位基因（A）	频数	频率（F）
8	1	0.00084
9	1	0.00084
10	115	0.096558
11	352	0.29555
12	636	0.534005
13	79	0.066331
14	7	0.005877

DYS444	GD=0.6859	
等位基因（A）	频数	频率（F）
9	1	0.00084
10	11	0.009236
11	106	0.089001
12	434	0.3644
13	472	0.396306
14	154	0.129303
15	11	0.009236
16	2	0.001679

DYS448	GD=0.7140	
等位基因（A）	频数	频率（F）
16	1	0.000848
17	17	0.014419
18	191	0.162002
18.2	1	0.000848
19	457	0.387617
20	368	0.312129
21	131	0.111111
22	13	0.011026

DYS447	GD=0.8229	
等位基因（A）	频数	频率（F）
19	3	0.002517
20	3	0.002517
21	9	0.00755
22	22	0.018456
23	247	0.207215
24	292	0.244966
25	221	0.185403
26	188	0.157718
27	138	0.115772
28	44	0.036913
29	24	0.020134
30	1	0.000839

DYS635	GD=0.7630	
等位基因（A）	频数	频率（F）
18	1	0.000836
19	105	0.087793
20	310	0.259197
21	414	0.346154
22	225	0.188127
23	96	0.080268
24	37	0.030936
25	7	0.005853
26	1	0.000836
18	1	0.000836

DYS449	GD=0.8777	
等位基因（A）	频数	频率（F）
25	9	0.007519
26	12	0.010025
27	52	0.043442
28	106	0.088555
29	171	0.142857
30	150	0.125313
31	202	0.168755
32	199	0.166249
33	142	0.11863
34	88	0.073517
35	41	0.034252
36	19	0.015873
37	4	0.003342
38	1	0.000835
39	1	0.000835

DYS458	GD=0.8048	
等位基因（A）	频数	频率（F）
13	2	0.001672
14	17	0.014214
14.1	4	0.003344
15	138	0.115385
16	258	0.215719
16.2	1	0.000836
17	345	0.288462
18	239	0.199833
18.2	1	0.000836
19	124	0.103679
19.2	1	0.000836
20	51	0.042642
21	12	0.010033
22	1	0.000836
23	2	0.001672

DYS456	GD=0.6108	
等位基因（A）	频数	频率（F）
12	1	0.000836
13	26	0.021739
14	202	0.168896
15	691	0.577759
16	179	0.149666
17	78	0.065217
18	18	0.01505
19	1	0.000836

DYS522	GD=0.6862	
等位基因（A）	频数	频率（F）
8	1	0.00084
9	8	0.006717
10	130	0.109152
11	446	0.374475
12	465	0.390428
13	115	0.096558
14	25	0.020991
15	1	0.00084

DYS449 GD=0.8777			DYS458 GD=0.8048		
等位基因（A）	频数	频率（F）	等位基因（A）	频数	频率（F）
25	9	0.007519	13	2	0.001672
26	12	0.010025	14	17	0.014214
27	52	0.043442	14.1	4	0.003344
28	106	0.088555	15	138	0.115385
29	171	0.142857	16	258	0.215719
30	150	0.125313	16.2	1	0.000836
31	202	0.168755	17	345	0.288462
32	199	0.166249	18	239	0.199833
33	142	0.11863	18.2	1	0.000836
34	88	0.073517	19	124	0.103679
35	41	0.034252	19.2	1	0.000836
36	19	0.015873	20	51	0.042642
37	4	0.003342	21	12	0.010033
38	1	0.000835	22	1	0.000836
39	1	0.000835	23	2	0.001672

385a/b GD=0.9705					
等位基因（A）	频数	频率（F）	等位基因（A）	频数	频率（F）
9/19	2	0.001674	13/19	63	0.05272
9.3/15	1	0.000837	13/20	42	0.035146
10/12	3	0.00251	13/21	15	0.012552
10/13	1	0.000837	13/22	11	0.009205
10/14	2	0.001674	13/23	2	0.001674
10/17	4	0.003347	13/24	1	0.000837
10/18	5	0.004184	14	2	0.001674
10/19	4	0.003347	14/15	4	0.003347
10/20	1	0.000837	14/16	17	0.014226
10.1/14	1	0.000837	14/17	20	0.016736
10.1/19	1	0.000837	14/18	30	0.025105
11	41	0.03431	14/19	30	0.025105
11/12	33	0.027615	14/20	6	0.005021
11/13	18	0.015063	14/21	4	0.003347
11/14	11	0.009205	14/22	2	0.001674
11/15	5	0.004184	15	2	0.001674
11/16	18	0.015063	15/16	5	0.004184
11/17	23	0.019247	15/17	5	0.004184
11/18	31	0.025941	15/18	5	0.004184

续表

385a/b GD=0.9705					
等位基因（A）	频数	频率（F）	等位基因（A）	频数	频率（F）
11/19	40	0.033473	15/19	8	0.006695
11/20	11	0.009205	15/20	10	0.008368
11/21	4	0.003347	15/21	5	0.004184
11/22	1	0.000837	15/22	10	0.008368
11/23	2	0.001674	15/23	3	0.00251
12	41	0.03431	16	1	0.000837
12/13	41	0.03431	16/17	4	0.003347
12/14	20	0.016736	16/19	1	0.000837
12/15	10	0.008368	16/20	8	0.006695
12/16	45	0.037657	16/21	6	0.005021
12/17	68	0.056904	16/22	1	0.000837
12/18	65	0.054393	16/23	2	0.001674
12/19	56	0.046862	16/25	1	0.000837
12/20	29	0.024268	17	2	0.001674
12/21	18	0.015063	17/19	2	0.001674
12/23	1	0.000837	17/21	1	0.000837
13	57	0.047699	18	3	0.00251
13/14	21	0.017573	18/20	1	0.000837
13/15	11	0.009205	13/16/18	1	0.000837
13/16	21	0.017573	13/16/17	1	0.000837
13/17	37	0.030962	14/19/20	1	0.000837
13/18	51	0.042678	11/13/17/18	1	0.000837
			12/13/19/21	1	0.000837

DYS527a/b GD=0.9417					
等位基因（A）	频数	频率（F）	等位基因（A）	频数	频率（F）
17/20	2	0.001676	21/22	116	0.097234
17/23	1	0.000838	21/23	102	0.085499
18	1	0.000838	21/23.2	1	0.000838
18/19	10	0.008382	21/24	55	0.046102
18/20	6	0.005029	21/25	9	0.007544
18/22	1	0.000838	21/26	3	0.002515
18/23	4	0.003353	21/28	1	0.000838
18/24	3	0.002515	22	101	0.084661

续表

DYS527a/b	GD=0.9417				
等位基因（A）	频数	频率（F）	等位基因（A）	频数	频率（F）
18/25	1	0.000838	22/23	87	0.072925
19	11	0.00922	22/24	28	0.02347
19/20	71	0.059514	22/25	5	0.004191
19/21	24	0.020117	22/26	5	0.004191
19/22	9	0.007544	23	73	0.06119
19/23	9	0.007544	23/24	23	0.019279
19/24	4	0.003353	23/25	9	0.007544
19/25	5	0.004191	23/26	2	0.001676
19/26	1	0.000838	23/27	1	0.000838
20	32	0.026823	24	8	0.006706
20/21	46	0.038558	24/25	2	0.001676
20/22	36	0.030176	25	4	0.003353
20/23	84	0.070411	19/20/21	1	0.000838
20/24	58	0.048617	19/20/22	1	0.000838
20/25	21	0.017603	19/20/21	1	0.000838
20/26	4	0.003353	19/21/23	1	0.000838
20/27	1	0.000838	20/22/25	1	0.000838
20.1	1	0.000838	21/22/23	1	0.000838
21	105	0.088013	21/23/24	1	0.000838

3 讨论

自 1997 年 Kayser 首次报道 DYS19 基因座以来，越来越多的 Y-STR 基因座被发现，目前已有 417 个新的 Y-STR 基因座被相继报道。现阶段国外已报道可以复合扩增检测达 27 个 Y-STR 基因座，而国内则在 16~35 个。本文选择的 24 个 Y-STR 基因座包含欧洲 Y 染色分型学会建议的最小单倍型（Minimal Haplotype，MHT，9 个）、YFiler 试剂盒（17 个），此外又增加了在山西大同地区具有较高鉴别能力的 7 个基因座，表明该系统具有较强的系统兼容性。由于染色体单倍型多样性与个人识别能力非父排除率数值相同，故足以描述群体 Y 染色体单倍型信息。单倍型多样性值越接近 1，家系鉴别能力越强。本文检测的 1209 名无关男性个体的单倍型多样性值为 1，说明该 AGCU-Y24-STR 系统具有较强的家系鉴别能力和较高的个体识别能力，对案件鉴定、Y-STR 数据库建设遗传关系的研究具有重要意义。

本次研究中，DYS391 的多态性最低，GD 值为 0.3748。据文献报道，我国群体 DYS391 多样性普遍分布较差，在北京、河南、内蒙古的汉族人群中的 GD 值分别为 0.4017、0.4754、0.3487；在广西苗族、瑶族、侗族的 GD 值分别为 0.2867，0.3170，0.3053；相反，该基因座在白种人如

意大利、西班牙、摩洛哥等人群中的 GD 值均大于 0.5。因此，虽然 DYS391 不适合中国人群的个体识别与父权鉴定，但在群体遗传学和种群识别方面，尤其是确定不同人种中基因型的分布却有显著优势。

Y 染色体由于呈单倍型连锁遗传及父系遗传等特征，对于男女混合、多名男性混合样本及父权鉴定的应用均有独到优点。通常对于单个男性样本的 Y-STR 基因座而言，一个样本的分型只有一条带，但对于 DYS385a/b 和 DYS527a/b 等基因座，却常检出多条带。推测其原因，可能是 Y 染色体在减数分裂过程中，也会发生部分同源染色体重组互换，导致在一个 Y-STR 基因座位上出现多个扩增片段。因此，在 Y-STR 基因座上出现多条带时，应结合其他基因座或者其他 Y-STR 系统联合检测，综合分析样本可能个数。

【参考文献】

[1] 侯一平，吴谨，李英碧，等. Y 染色体特异短串联重复序列初步研究［J］. 中华医学遗传学杂志，1999，16（2）：65-69.
[2] Hou Y. P.，Zhang J.，Li Y. B.，Wu J.，Zhang S. Z.，Prinz M. 1.. Allele sequences of six new Y-STR loci and haplotypes in the Chinese Han population. Forensic Sci Int，2001，118（2-3）：147-152.
[3] Hanson E. K.，Ballantyne J.. Comprehensive annotated STR physical map of the human Y chromosome：forensic implication. Leg Med（Tokyo），2006，8（2）：110-120.
[4] Schoske R.，Vallone P. M.，Kline M. C.，et al.. High-throughput Y-STR typing of U. S. populations with 27 regions of the Y chromosome using two multiplex PCR assays. Forensic Sci Int，2004，139（2- 3）：107-121.
[5] 石美森，百茹峰，傅博. 山西汉族 17 个 Y-STR 基因座遗传多态性及遗传关系［J］. 遗传，2011，33（3）：228-238.
[6] 鲁涤，袁丽，杨雪. 北京汉族群体 17 个 Y-STR 基因座遗传多态性［J］. 中国法医学杂志，2010，25（6）：432-433.
[7] 鲁涤，袁丽，杨雪. 北京汉族群体 17 个 Y-STR 基因座遗传多态性［J］. 中国法医学杂志，2010，25（6）：432-433.
[8] 申成斌，刘成昌，李效阳等. DYS19，DYS391 和 DYS439 基因座多态性研究［J］. 河南医学研究，2004，13（1）：31-33.
[9] 王永在，王勇，黄太宇等. 内蒙古汉族人群 17 个 Y-STR 基因座遗传多态性［J］. 中国法医学杂志，2009，24（2）：117-118.
[10] 焦伟，刘斐，黎海澜等. 16 个 Y-STR 基因座在广西苗族、瑶族、侗族人群中的遗传多态性［J］. 法医学杂志，2012，28（5）：355-358.
[11] Turrina S.，Atzei R.，De Leo D.. Y-chromosomal STR haplotypes in a Northeast Italian population sample using 17plex loci PCR assay［J］. Int J Legal Med，2006，120（1）：56-59.
[12] Ambrosio B.，Novelletto A.，Hernandez C.，et al.. Y-STR genetic diversity in autochthonous andalusians from huelva and granada provinces（Spain）［J］. Forensic Sci Int Genet，2012，6（2）：66-71.
[13] Laouina A.，El Houate B.，Yahia H.，et al.. Allele frequencies and population data for 17 Y-STR loci（The AmpFlSTR © Y-filer TM）in Casablanca resident population［J］. Forensic Sci Int Genet，2011，5（1）：1-3.

利用 Y-STR 数据库破案的几点体会

乔智颖，刘玉春
（内蒙古自治区赤峰市公安局，024000）

2013 年 4 月至 2014 年 10 月，赤峰市公安局共对 2009 个行政村的 179.24 万名男性公民开展了家系排查工作，共绘制家系图谱 20.511 万张；依据“较大的家系必须采集 2 人以上样本；家系内被采

集人之间的血缘关系尽可能远（五代以内）；在分支较多的家系中采集血样，每个分支须各采集一名成员血样”的原则，共采集家系血样 22.6 万人份；录入家系人员信息 188.0038（含部分原本地户籍，现暂住外地人员）万人；检验并录入样本信息 21.75 万人份（部分血样不合格），率先在全国完成了覆盖全市所有农村人口的家系排查、家系图谱绘制、家系样本检验和家系信息录入工作。同时，赤峰市公安局坚持“边建边用，以用促建”的原则，至 2016 年年底相继侦破了八起命案积案及多起系列强奸案件、盗窃变压器案件百余起。Y-STR 数据库在侦查破案实战中，已凸显出巨大的威力。本人参与了其中几起命案积案的侦破工作，现将几点体会与大家分享：

1 案例资料

案例 1：2005 年 8 月 27 日，邵某某妻 8 报案称：邵某某开出租车去锡林浩特市三十一团未归，后在 303 桥头发现邵某某的尸体，经法医鉴定系被他人杀害死亡。2016 年 5 月 26 日 16 时 30 分许将犯罪嫌疑人沈某某成功抓获，至此历时十一年的克旗“2005.8.26”邵某某被杀案成功告破。

案例 2：2003 年 8 月 2 日 12 时许，松山区公安分局刑侦大队接到报案人称：松山区牤牛营子村的中学教师贺某芬（女，39 岁），在 8 月 1 日 19 时许骑自行车回榆树林家的途中被人杀害，尸体被拖至烟地，随身携带的一部波导 1500 型手机被抢走。2014 年 9 月 1 日，犯罪嫌疑人张某军在乌海市海勃湾区一平房内被成功抓获。

2 讨论

2.1 提取并获得可靠的现场生物物证常染色体分型及 Y-STR 分型是 DNA 数据库应用的基础

要注意甄别现场物证，通过现场勘查、死因分析、犯罪嫌疑人在现场中的行为特征等分析，明确物证的价值，确定犯罪嫌疑人 DNA，才能主动出击，否则会误导侦查工作。2015 年 3 月，将克旗“邵某某被杀”案中当时在出租车车内烟缸里提取的 5 枚烟头和出租车方向盘套被送往赤峰市 DNA 实验室，从其中 2 枚烟头上检出陌生男性个体的完整分型，从出租车方向盘套疑似犯罪嫌疑人遗留掌纹上检出部分位点，与烟头检出的 DNA 分型部分一致，推断烟头检出的 DNA 分型有可能为犯罪嫌疑人所留，后加作 Y-STR 进一步找到了犯罪嫌疑人。“贺某芬被杀案”中关键证据是一件沾血的在垃圾桶中发现的上衣，经检验其上血迹是来源于死者，后在其领口上检出男性 Y-STR 分型。这两个案件中，家系排查、人员比对查找，历时都达两年以上，采集比中家系相关人员血样几百份，跨越多省，支持着办案人员坚持下来的就是这些指向犯罪嫌疑人的直接证据。

2.2 要通过现场环境，准确判断侦查范围，从而为应用 Y-STR 分型技术缩小排查范围

一般以户籍资料及姓氏关系为调查基础。对 Y-STR 分型比中的家族中男性成员，通常全部进行常染色体 DNA 检验，具备作案条件的，如年龄、是否为前科人员等应该作为重点，优先检验排查。“贺秀芬被杀案”中，比中家系后，先根据犯罪嫌疑人年龄范围重点对 1984 年（案发时 20 岁）以后出生的男性逐人开展工作，并先后到黑龙江、辽宁、河北、内蒙古东西部地区进行调查走访，共计排查 127 人，但案件未取得实质性进展。后来再次对现场及尸检情况进行分析，最终研究确定案发时犯罪嫌疑人应为未成年人，扩大该家族男性人员取血范围，采集 1988 年（案发时 15 周岁）至 1984 年（案发时 20 周岁）出生的男性共 26 人，终于找到犯罪嫌疑人（案发时仅 16 岁）。

2.3 认定犯罪嫌疑人时，要结合多种技术手段，交叉使用，互相提供支持

在“贺某芬被杀案”中，犯罪嫌疑人张某军被捕后拒不承认犯罪事实，审讯工作异常艰难，后经过 9 个小时的测谎工作，逐渐攻破了犯罪嫌疑人张某军的心理防线，使其开始陈述案件的相关细节。

大规模的赤峰“Y-STR”DNA 数据库建设工作已基本完成，这是一项功在当代，惠及后人的系统工程。我市 Y-STR 数据库在实际案例中发挥了强有力的作用，突破了已有的 DNA 检验的应用范

畴，拓展了 DNA 的应用渠道，不仅降低了办案成本，提高了办案效率，而且大大彰显了 DNA 检验在侦查破案中的威力。

【参考文献】

贾宵，陈灿球，余单媛．男性家族排查法在侦查破案中的应用．[J]．法医学理论创新与实践（第 6 届全国公安系统法医学论坛），2014.

DYF387S1 基因座的异常分型一例

刘佳秀[1]，春　晖[2]，徐心诺[3]

（1. 内蒙古自治区赤峰市公安司法鉴定中心，024000；2. 内蒙古自治区赤峰市林西县公安局，024000；
3. 内蒙古自治区赤峰市公安司法鉴定中心，024000）

Y 染色体被称为“谱系标记”。这种“谱系标记”在法医学混合斑分析、涉男性犯罪嫌疑人案件的排查中，能够将犯罪嫌疑人与某个特定家族相关联，从而缩小侦查范围，极大地减少了工作量，提高效率。Y 染色体为正常男性所独有，其男性特异区在减数分裂过程中不发生重组，分布在 Y 染色体的短串联重复序列（Y-STR）以紧密连锁的单倍体从父代向子代传递。正常情况下，男性个体的每一个 Y-STR 基因座仅有一个等位基因。DYF387S1 是 Y-filer Plus 复合扩增试剂盒在常用位点基础上新增的第六色荧光标记位点，其一对引物在 Y 染色体上有两个结合位点，可以扩增出两组片段大小有交叉的 PCR 产物。近年来，随着对 Y-STR 研究的深入，发现 DYF387S1 基因座有特异分型的现象，有三条至五条带的出现。本实验室在进行建库检验时发现，DYF387S1 基因组出现了六个等位基因。现报道如下：

1 材料和方法

1.1 样本采集

两份来源同一家系的血样来自本实验室建 Y-STR 数据库的日常检验积累。

1.2 DNA 提取及 PCR 扩增

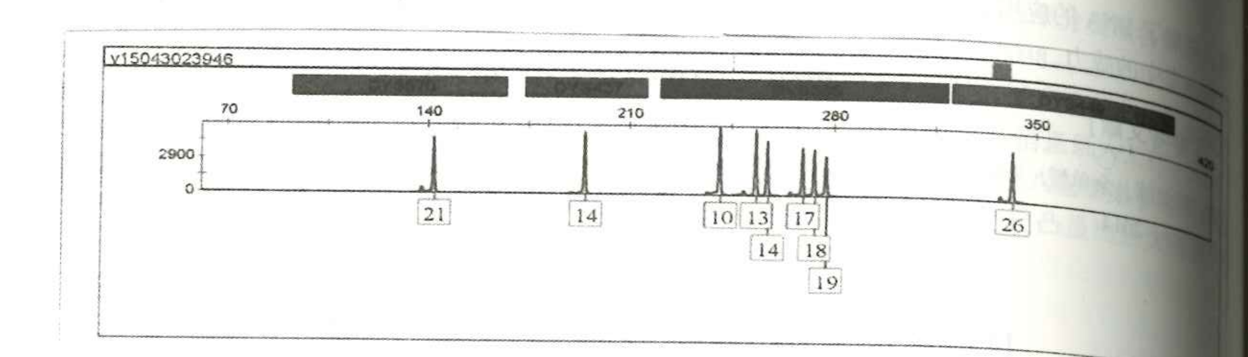
使用 BSD-QP 型打孔机（BSD 公司，澳大利亚）打取直径 1.2mm 样本，使用 9700PCR 仪（美国 ABI 公司）与 Y-filer Plus 复合扩增试剂盒（美国 ABI 公司）进行 PCR 扩增，PCR 扩增总体系为 10μL。其中包含反应混合物 4μL，引物 2μL，水 3μL。热循环参数：95℃ 1min；94℃ 4s，61℃ 1min，60℃ 22min，共 27 个循环；产物 4℃保存。

1.3 扩增片段的电泳与分型检测

取扩增产物 1μL 加入　甲酰胺与 Liz600 的混合液中，在 3500XL 全自动遗传分析仪（美国 ABI 公司）进行毛细管电泳，电泳结果数据在 GeneMapper ID-X 软件进行基因分析。

2 实验结果

2 份血样均在 DYF387S1 基因座上检出六条谱带，如图 1 所示。



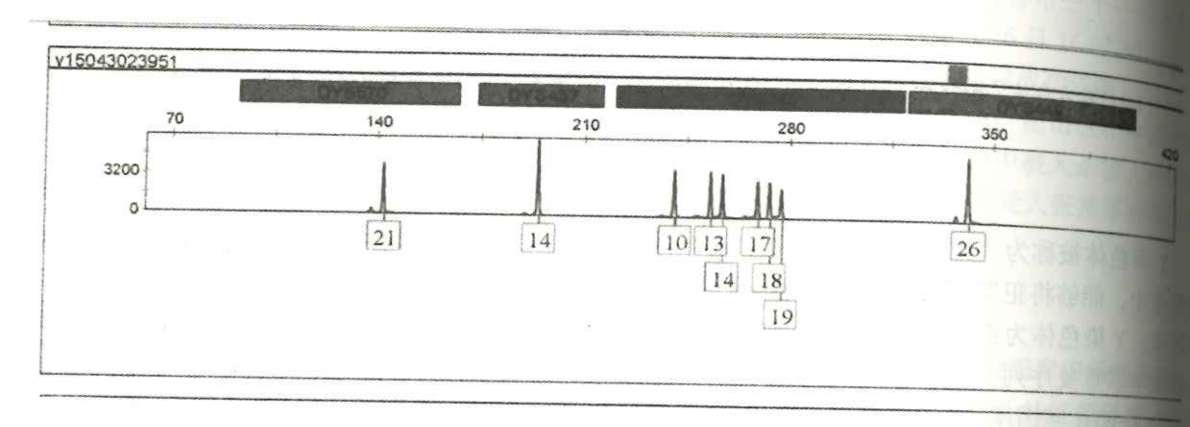


图 1　样本 y15043023946 和 y15043023951 的 DYF387S1 基因座分型

3　讨论

本文中的两份血样均在 DYF387S1 基因座上检出六条谱带，六条谱带的峰高和峰面积的比例大约为 1∶1∶1∶1∶1∶1，两份血样均检出 10/13/14/17/18/19 基因型，其余的二十四个基因座的结果均正常。检验过程中实验室温湿度，仪器性能和耗材状态、分析软件均满足要求，且分型峰 RFU 值均大于 1000。

Y-STR 基因座的变异和突变率一般不超过常染色体的突变率，在对 46 个 Y-STR 基因座在中国汉族人群中的遗传多态性与突变情况的调查分析中。DYF387S1 的 GD 值最高 0. 9532，GD 值均大于 0. 6，适合在中国汉族人群法医学中应用。

DYF387S1 基因座为多拷贝基因座，可以同时获得两个扩增片段。对于这种现象其实也是基因座多态性现象，基因多态性是指正常人群中在某个基因座上存在 2 个或者 2 个以上不同等位基因的现象，而且每个等位基因的频率在 2%以上，由于 Y-STR 在减数分裂过程中不发生重组，因此，其基因多态性主要归因于基因突变，既可能是单个核苷酸突变，也可能是核心序列重复次数的变异，对于 Y-STR 基因座大部分属于第二种。

在 DYF387S1 基因座上之所以出现六拷贝基因型，其原因可能有两种：一是 Y 染色体存在重复序列和回文序列，使此基因座存在多个拷贝。二是在减数分裂过程中，可能也会发生部分同源染色体重组互换，导致此基因座位上出现多个扩增片段。

Y-STR 基因座异常分型的发生有一定的概率，在相关案件分析判断犯罪嫌疑人数目时应予以注意。多个男性个体样本混合，如某个体样本量很少，在扩增时可能只有个别基因座有低峰出现，这要和 Y-STR 异常分型现象区别。因此，在个体识别时要注意和混合样品的区别，要比较其他的基因座是否也出现多个谱带，综合分析可能含有男性的人数，必要时应结合其他的 Y-STR 系统的检验结果，无论是对单一样本还是混合样本，结果判定一定要慎重。另外在案件中，在常染色体同一认定的基础上，Y 染色体特殊等位基因分型的检出会进一步增强同一认定的证明力度。特别是在室外条件比较复杂的案件现场，部分物证存在个别位点轻微污染的现象，增加了鉴定风险度，此时加做 Y 染色体很有必要，Y 染色体特殊分型的检出则进一步提高物证与人之间的关联度，也值得其他同行在 Y 染色体分型的研判中加以注意。

【参考文献】

[1] 刘亚举. DYF387S1 基因型分型异常现象［J］. 河南科技大学学报，2015，33（3）：221-223.
[2] Kurihara R.，Yamamoto T.，UchihiR，et al.. Mutations in 14Y-STRloci among Japanese father-son haplotypes［J］. Int Jbegal Med，2004，118（3）：125-131.
[3] 吴薇薇. 中国汉族人群 46 个 Y - STR 基因座多态性与突变调查［J］. 中国法医学杂志，2015，30（3）：257-259.

利用 M-Vac Systems DNA 物证采集仪提取疑难检材的新应用两例

郝永峰，思　洋，唐　萍
（内蒙古自治区鄂尔多斯市公安局刑侦支队，017000）

M-Vac Systems 是美国麦微科公司的推出的一款现场法医 DNA 物证采集仪，采用湿法真空原理，就是利用压力将一种无菌的收集液喷洒到物证表面，利用真空吸力将这些收集液及生物物证一并吸回收集瓶中，再通过滤膜进行抽滤回收液，得到含有 DNA 样本的滤膜。

1　案例 1

1.1　案件资料及现场勘查及前期物证检验情况

2016 年 7 月 11 日 8 时 30 分内蒙古鄂尔多斯市鄂托克旗公安局接到白某报案称：2016 年 7 月 11 日，其经营的茂洋大酒店内部分电视及电脑被盗。勘查现场中发现，现场 2 楼有一排足迹，后该足迹一直延续到 4 楼 404 房间的卫生间马桶，马桶盖呈开启状，内有正常体积的清澈液体，疑似犯罪嫌疑人在该马桶内小便过。后勘查人员将马桶内液体抽提约 0. 5 公升送到鄂尔多斯市公安局 DNA 实验室。

1.2　DNA 检测

1.2.1　检材提取

将 0. 5 公升液体使用 M-Vac Systems 现场法医 DNA 物证采集仪进行抽滤，取得抽滤瓶中滤膜。所提取的检材用 M48 试剂盒处理。

1.2.2　PCR 扩增与电泳分析

取上述滤膜模板适量，使用 Identifiler Plus 荧光检测试剂盒和 ABI 9700 PCR 仪进行 PCR 复合扩增，扩增体系为 10μL。扩增产物应用 ABI 3500XL 型遗传分析仪电泳检测和 GeneMapper ID-X 软件进行分析。

1.2.3　结果

使用 M-Vac Systems 现场法医 DNA 物证采集仪抽滤的检材检测出一男性 STR 分型。将该男性的 STR 分型录入全国 DNA 数据库比对未果。后通过技侦手段抓获一名甘肃籍男子，与马桶内得到的

STR分型结果匹配，为案件提供重要的诉讼证据。

2 案例2

2.1 案件资料及现场勘查及前期物证检验情况

2016年6月10日14时1分，鄂尔多斯市乌审旗接到白某报案称：其同事李某已经好几天不来其工作的足疗店上班了，疑似失踪。经公安局调查发现董某与李某于6月7日一起离开足疗店后，董某与李某都不知去向。后调查人员在董某家发现一盆洗衣水，血红蛋白试纸条检验呈弱阳性，疑似犯罪嫌疑人在此盆内洗过带血衣物。后勘查人员将盆内液体抽提约1.5公升送到鄂尔多斯市公安局DNA实验室。

2.2 DNA检测

2.2.1 检材提取

将1.5公升液体使用M-Vac Systems现场法医DNA物证采集仪进行抽滤，取得抽滤瓶中滤膜。所提取的检材用M48试剂盒处理。

2.2.2 PCR扩增与电泳分析

取上述滤膜模板适量，使用Identifiler Plus荧光检测试剂盒和ABI 9700 PCR仪进行PCR复合扩增，扩增体系为10μL。扩增产物应用ABI 3500XL型遗传分析仪电泳检测和GeneMapper ID-X软件进行分析。

2.2.3 结果

使用M-Vac Systems现场法医DNA物证采集仪抽滤的检材检测出一混合图谱，其中主要是一个女性STR分型，结合其他现场提取物证分析该女性STR分型应为疑似失踪的李某所留，李某可能已经遇害。

3 分析讨论

较传统的采样方法，上述两案先采用传统的方法都未得到满意结果，而M-Vac Systems采集系统提供了一种高标准的回收、浓缩方法，再结合M48试剂盒纯化检材，使样本DNA提取的质量及最终结果分析的准确性均能得到保证。在现场法医DNA检测中，检材受到体积、性状、环境等的影响不易转移，或者DNA损失量较大，往往不易检测DNA分型结果。以后在一些案件的特殊检材如石头、树枝等粗糙、多孔表面物证，还有马桶水，洗手水等大体积液体时，我们建议同行可以参考M-Vac Systems现场法医DNA物证采集仪的使用提取方法更有优势。目前，国内外有较多的成功案例，使在DNA现场提取中多了一种技术方法。

DNATyper™ 19试剂盒直接扩增法的研究

蔺日胜，赵　勇，赵　娜
（内蒙古自治区锡林郭勒盟公安局刑侦支队，026000）

棉签擦拭血痕、新鲜肋软骨、烟蒂及直接接触类脱落细胞类检材是公安机关日常案件鉴定中较为常见的检材，传统方法需要经过DNA提取、纯化、PCR扩增、STR分型检测等阶段，操作烦琐，较为费时。PCR直接扩增法可以实现直接扩增而缩短检验时间，提高检验效率。但目前国内外关于该方法的研究主要集中在以FTA卡或滤纸为载体的血痕及口腔拭子类检材，而在公安机关案件检验过

程中最常见的四类检材：棉签为载体的血痕、新鲜肋软骨及烟蒂、直接接触类脱落细胞能否应用PCR直接扩增报道较少。本文主要研究DNATyper™19试剂盒直接扩增法检验上述四种检材的可行性和有效性。

1 材料及方法

1.1 检材情况

本实验室2014年6月至2015年6月累积的已知结果的棉签血痕30份，新鲜肋骨16份，烟蒂28份，直接接触类检材20份。

1.2 仪器与试剂

DNATyper™19试剂盒（公安部二所），9700型PCR扩增仪（AB公司），3500型遗传分析仪（AB公司）。

1.3 实验方法

DNATyper™19试剂盒中2.5×PCR反应液4μL、5×引物混合物2μL、ddH_2O 3μL混匀。棉签擦拭血痕剪取约1mm×0.5mm，肋软骨切取约1mm×1mm×1mm，烟蒂在咬痕或疑似唾液斑痕迹处剪取2mm×0.5mm，直接接触类脱落细胞剪取接触部位或擦拭棉签部位约2mm×2mm大小，上述检材使其完全浸没于扩增体系中。扩增参数：95℃变性，11min；94℃，30s，59℃，2min，72℃，1min；28个循环；60℃，60min，25℃，保持。扩增产物在3500型遗传分析仪上进行检测，用GeneMapper ID v3.2软件进行分析。

2 结果见下表

表　DNATyper™19试剂盒检验结果

检材	检出数（检出率）	检材	检出数（检出率）
血痕（30）	30（100%）	烟蒂（28）	21（75%）
肋软骨（16）	16（100%）	手套脱落细胞（20）	14（55%）

3 讨论

直接扩增法在实验准确分型的同时，与传统方法相比省略了DNA提取步骤，尤其对肋软骨类检材省略了前期消化的过程，仅通过扩增和检测两个步骤即可获得完整的DNA STR分型结果，全程约165min，大大缩短了DNA检验的时间。另外，直接扩增法在检验过程中只需要将扩增产物转移到检测板上一步转移过程，实验步骤少，造成污染的机会小。并且该方法检材用量更少，对于一些重要检材，较传统方法更为有效。

需要特别注意的是，对于烟蒂类检材进行直接扩增法操作时，要尽量选取咬痕或唾液斑痕处进行剪取，对于一部分烟蒂可以多剪取几处分别扩增以保证可以得到DNA STR分型结果。此外，对于手套类检材，受直接扩增法扩增体系所限，所承载的检材及其载体有限，得到完整DNA STR分型结果的成功率相对较低（75%）。另外，在电泳加样时需谨慎操作，或者瞬时离心，防止因吸入样本载体导致电泳仪毛细管堵塞。

综上所述，基于DNATyper™19扩增试剂盒的直接扩增法可以实现对棉签擦拭血痕、肋软骨、烟蒂以及手套脱落细胞类检材的快速检验。对公安机关快速侦破案件、缉拿真凶来说是非常有效的技术进步。但现阶段，直接扩增法尚未有相关行业标准对实验过程予以规范；实验结果准确性、可靠性仍需要予以大样本数据考证，这也是本实验室下一步的工作方向。建议对于急案、要案、有条件的实验

室可结合检材情况选取该方法进行初步的排查，排查所得的结果还需要进一步以传统方法予以验证，然后再用于刑事诉讼活动。

直接扩增法与八联管 Chelex 法快速检案的探讨

蔺日胜
（内蒙古自治区锡林郭勒盟公安局刑侦支队，026000）

近年来，随着 DNA 检验技术的发展，DNA 技术已成为侦查破案的一把利器。基层办案部门越来越依赖 DNA 技术，现场勘查人员提取生物物证的意识越来越强，导致本实验室现场物证数量激增，检验工作量较大。本实验室通过对比直接扩增法和八联管 Chelex 法快速检案的检验时间、检验程序、检验结果，摸索出合适的快速检案方法。

1 材料与方法

1.1 样本

本实验室 2014 年 1 月至 2015 年 2 月日常受理案件常见检材 115 例，其中烟头 31 枚、血斑 38 份、瓶子 29 份，果核 17 份。

1.2 仪器和试剂

9700 型扩增仪（AB 公司）、3500 型测序仪（AB 公司）、Eppendorf 八联管离心机、Identifiler Plus 试剂盒（AB 公司）、Chelex-100（BIO）。

1.3 方法

1.3.1 直接扩增法

应用 Identifiler Plus 试剂盒 10μL 体系分装八联管中，剪取案件检材及擦拭物 1.0mm×1.0mm 大小加入对应八联管中。扩增参数参照 Identifiler Plus 试剂盒操作手册。PCR 扩增产物经 3500 型测序仪电泳，结果用 GeneMapper ID v3.2 软件进行分析，获得等位基因分析图谱。

1.3.2 八联管 Chelex 法

取八联管做好标记，剪取相应检材加入相应八联管中，略去水洗步骤，每管直接加入已配置好的 Chelex-100 溶液 100μL（19ml 5%Chelex-100 溶液，加入 1ml 10mg/ml 蛋白酶 K），振荡，确保检材浸入溶液中，将八联管放置在 9700 型 PCR 仪中，设置程序 56℃保温 30min，保温后振荡，99℃保温 8min，取出八联管 13000rpm 离心 3min，上清备用。

应用 Identifiler Plus 试剂盒 10μL 体系，扩增参数参照 Identifiler Plus 试剂盒操作手册。PCR 扩增产物经 3500 型测序仪电泳，结果用 GeneMapper ID v3.2 软件进行分析，获得等位基因分析图谱。

2 结果与讨论

本文中，115 份常规检材中利用直接扩增法共有 82 份获得良好 STR 基因分型，其中烟头 21 枚、血斑 37 份、瓶子 17 份，果核 7 份。利用八联管 Chelex 法共有 101 份获得良好 STR 基因分型，其中烟头 27 枚、血斑 37 份、瓶子 25 份，果核 12 份。针对未检出样本采用 M48 磁珠法提取，再次检验后检出烟头 2 枚、血斑 1 份、瓶子 2 份，果核 1 份。

在直接扩增法和八联管 Chelex 法检案过程中，利用直接扩增法用时较短，检案成本低，但在检验烟蒂、瓶子、果核类检材时，因个别检材杂质较多，混有泥土等杂质，严重影响检验结果；但检验

血斑时，因血斑中 DNA 含量较高，受杂质的影响较小，因此在血斑检验过程中推荐使用直接扩增法。八联管 Chelex 法检案相比直接扩增法而言，检验时间增加，检验程序相对复杂，但因检验过程中将杂质等抑制物质在离心过程中沉淀在八联管底部，将上清 DNA 悬液扩增，减少抑制作用，八联管 Chelex 法能获得良好的 STR 基因图谱，且检出率较高，因此在检验污染较大的检材时因使用八联管 Chelex 法。对于时间较久、环境条件较为恶劣的检材可使用 M48 磁珠试剂盒检验。

利用 13 个 Y-SNP 位点对部分人群法医学应用的初探

陈殿宇，张 彪，刘 则，龙冠男，喻少波
（辽宁省沈阳市公安局刑事侦察局技术一处 DNA 室，110013）

Y-SNP，是位于人类男性 Y 染色体上的单核苷酸序列多态性（Single Nucleotide Polymorphism，SNP），主要指在基因组特定位置发生转换、颠换、插入、缺失等导致的 DNA 序列多态性。由于含量丰富、遗传稳定等特点，SNP 被认为是继限制性片段长度多态性和短串联重复序列后的第三代遗传标志。Y 染色体呈父系遗传，突变率低，对遗传漂变敏感，具有群体特异性。因此，Y-SNP 在涉及性犯罪、父系亲缘关系鉴定及群体遗传等研究领域具有重要的应用价值。

本研究使用 AS-PCR 方法，拟通过 13 个 Y-SNP 位点对南北方人群、汉回族人群进行区分，为 Y-SNP 方法在法医学中的应用提供理论和数据支持。

1 材料和方法

1.1 样本收集与位点选择

样本选取国内若干份无关男性血液样本，其中 40 份北方样本，104 份南方样本，40 份汉族样本，39 份回族样本。样本 DNA 提取使用天根血液 DNA 提取试剂盒提取。根据文献报道及国际 Y 染色体协会（Y—Chromosome Consortium，YCC）公布的人类 Y 染色体双等位基因信息，针对东亚群体的多态性选取出 13 个位点进行研究，13 个位点分别为 M122，M175，M324，M45，M74，M89，M9，M110，M134，M15，M48，M7，M95。

1.2 PCR 扩增及产物检测

使用等位基因特异性 PCR（AS- PCR）方法对各 Y-SNP 位点进行基因分型，PCR 反应体系为 10μL，扩增条件为 95 ℃ 5min；94 ℃ 30 s，60℃（据位点而定）30s，72℃ 1min，共 40 个循环；72℃ 10min。PCR 扩增仪器为东胜基因扩增仪 ETC811。各位点的引物序列详见表 1。

1.3 电泳检测及数据分析

PCR 扩增产物用 2%琼脂糖凝胶进行电泳检测，并用 UVI ESSENTIAL V6 凝胶成像仪拍照，根据电泳条带大小判断基因分型。用直接计数法计算各位点基因型的分布比例。

2 结果

2.1 汉族与回族群体多态性位点分型结果

使用 M122，M175，M324，M45，M74，M89，M9 位点基因型的不同对汉族与回族群体进行区分，分型结果如表 2 所示。M122（A→G）、M9（C→G）、M89（C→T）位点的未突变基因型在汉族群体中分布比例较低，分别为 5%、7.5%、2.5%；在回族群体中其检出比例分别为 48.7%、33.3%、15.3%；M122、M9、M89 三个位点在汉族与回族群体中不同基因型的检出比例明显不同，具有区分汉

族与回族群体的能力。M175 位点的突变情况为由 TTCTC 突变为 del TTCTC，其 TTCTC 基因型在汉族样本中检出比例为 25%，在回族样本中检出比例为 56.4%，差异明显，可用于区分汉族与回族群体。

表 1　13 个 Y-SNP 位点的引物序列

位点	引物序列（5’ -3’ ）		Tm/℃
M122	F1：AAGCAAAGTTGAGGTTGCACA	R1：GCGCGCTTGAGATACTAATTGAT	58
	F2：ATTCAGATTTTCCCCTGAGACCG	R2：AATGCCAGCAGTAAGAGTTCA	58
M175	F1：AGTCAAGCTTACGGTATGTGC	R1：GTTTCTGTTCATTCTTGACAA	58
	F2：GCACATGCCTTCTCACTTCTCA	R2：AAATTCTTCCATACAGCCACC	58
M324	F1：CAAGAGGGAGTCATCTGGTGTG	R1：GATACATGGGCTGCAACAACAC	58
	F2：GATCTACCTGCCCTTTCGTC	R2：GCAGATGGGAAGTGAAACAAC	58
M45	F1：GCAAGACACTTCTGAGCATCG	R1：ACCTCAGAAGGAGCTTATTCCC	50
	F2：CCGGCAGTGAAGAATTATAGAAAA	R2：TTCGCCTTGTGTGGGTATGATT	50
M74	F1：AATATGGAGCGGGGGTTGTAA	R1：CGACTTAAAGCAACTTAAGAATGC	58
	F2：CGATTAGGTATTGTAACAACTGCTA	R2：TCCTGTTAGCTAGAACCTTACTGT	58
M89	F1：AAAAGCAGATTGATGTCCCACT	R1：AACTCAGGCAAAGTGAGAGTTA	55
	F2：CGCGGTTATGTACAACAATGTT	R2：TCCAGTTGAGAGATCCCCTCA	55
M9	F1：TGAAGTGCGGCGTCTTTGAT	R1：GCGGCTTAAAGAAAAATAAAGAGC	58
	F2：CGGCCTAAGATGGTTGAATC	R2：TGAAGCTCGTGAAACAGATTAGA	58
M110	F1：GCCGTCGCTGGACTCATA	R1：GCGACAGTTTACAAGAACTTA	58
	F2：GCAGGATGTCGGTACAATATAATC	R2：GGTACGTGTGTTTAGCGATGT	58
M134	F1：GTCAAGTCCAACCAAATTTCCTTCA	R1：CGGGCCCAGGAAAGTTTG	62
	F2：AGAGATACTTTTGATCCCCACCTAT	R2：GAACTCTCTCAGCTACCGCA	62
M15	F1：AGATGGTGTGTGAGTCCAGC	R1：GTAGAGAAAAGGTGGTACAATCCC	58
	F2：CTAGGGAGACATTGTACAGAGA	R2：TTGCTGGGTGAAGGAGATGT	58
M48	F1：AAATAGCAAAATACGAAGCCCAG	R1：TGAGGGCAACTATTAAGGCAATT	62
	F2：CGCGTTTCATGACTGAAATCAGG	R2：AATCTTGACACTTGGAAAAGCCA	62
M7	F1：AGCACCTGCATCACCAA	R1：GCGAGTTACTGTTCTTCATG	56
	F2：GCGCGTCAGATCTAACAAG	R2：ACCCACCTTGCCTTTGA	56
M95	F1：GGAAATCAAGATGCCAAGCA	R1：GAAAGGCTAAGCCATCGAG	58
	F2：GCCGGACTACCATATTAGAGT	R2：ATGAGAAATGGGTCAAGGTC	58

表 2　7 个 Y-SNP 位点对汉族与回族群体的分型结果

位点信息	汉族 40 个样本		回族 39 个样本	
	位点基因型	分布比例	位点基因型	分布比例
M122	A	5%	A	48.7%
	G	95%	G	51.3%
M324	G	47.5%	G	48.7%
	C	52.5%	C	51.3%
M175	TTCTC	25%	TTCTC	56.4%
	del TTCTC	75%	del TTCTC	43.6%
M9	C	7.5%	C	33.3%
	G	92.5%	G	66.7%
M89	C	2.5%	C	15.3%
	T	97.5%	T	84.7%
M45	G	97.5%	G	94.87%
	A	2.5%	A	5.13%
M74	G	97.5%	G	97.4%
	A	2.5%	A	2.6%

M324（G→C）位点的 G 基因型在汉族样本中检出比例为 47.5%，在回族样本中检出比例为 48.7%，区分效果不明显。M45（G→A）位点的 G 基因型在汉族样本中检出比例为 97.5%，在回族样本中检出比例为 94.87%，分布较为接近，无法进行区分。M74（G→A）位点的 G 基因型在汉族样本中检出比例为 97.5%，在回族样本中检出比例为 97.4%，分布基本一致，无法区分汉族与回族样本。

2.2　中国南方与北方群体多态性位点分型结果

使用 M110，M134，M15，M48，M7，M95 位点对南方与北方群体进行区分，分型结果详见表 3。根据文献报道，M95（C→T）位点的 C 基因型多分布于北方群体，T 基因型多分布于南方群体；本研究中，所有北方样本均为 C 基因型，南方样本中有 6%样本为 T 基因型，94%样本检出 C 基因型，M95 位点可对南北方样本进行区分。M134（C→del C）位点 C 基因型多分布于南方群体，del C 基因型多分布于西南及藏区群体；在本研究中，所有南方样本均为 C 基因型，所有北方样本均为 del C 基因型，差异明显，具备区分南北方样本能力。

在本研究中，M15 位点（GGCA 北方 →TTGTACAGAGA 南方）在南北方样本中几乎均呈现出 GGCA 基因型。M110 位点（T 北方→C 南方）与 M7（C 北方→G 南方）位点在所有样本中均表现出北方群体基因型。M48（A 南方→T 北方）位点在所有样本中均为 A 基因型，即南方群体基因型。M15、M110、M7、M48 位点均不能有效区分南北方样本，不将其作为后续研究位点。

表 3　6 个 Y-SNP 位点对南方与北方群体的分型结果

位点信息	基因分型信息	样本基因型检出信息	
		40 个北方样本	104 个南方样本
M15	GGCA-北方	100%	99%
	TTGTACAGAGA-南方		1%
M95	C-北方	100%	94%
	T-南方		6%
M110	T-北方	100%	100%
	C-南方		
M7	C-北方	100%	100%
	G-南方		
M48	A-南方	100%	100%
	T-北方		
M134	C-南方		100%
	del C-西南、藏区	100%	

3　讨论

本研究所选取的 13 个 Y-SNP 位点中，其中 4 个位点可区分汉族与回族群体，2 个位点可区分出国内南方与北方群体；表明 Y-SNP 位点可区分样本的地理来源和民族来源，并为此提供了数据支持。在选取的 6 个区分国内南方与北方群体的 Y-SNP 位点中，只有 M95 与 M134 位点具备区分效果。根据文献信息，M134 位点的 delC 位点多分布于西南及藏区地区，但在本研究中，所有北方样本均检测出 delC 基因型，南方样本中未检测出 delC 基因型。本研究中 M15、M110、M7、M48 位点在南北方样本中基因型一致，未呈现多态性分布，与已有文献报道存在差异。Y 染色体有效群体大小较小，对遗传漂变非常敏感，易表现出明显的群体特异性多态，因此 Y-SNP 位点的地理分布具有较高差异。在 Y-SNP 研究中选择样本时，应确保样本间无亲缘关系或其他较亲密关系，避免因其祖先亲缘关系接近导致的基因型分布相似而影响 Y-SNP 分型结果的准确性。由于 Y-SNP 位点各基因型的分布具有明显的多态性，在研究位点基因型分布时应检测大量样本以验证分型结果的可靠性。利用 Y-SNP 位点检测体系对国内各民族、各地理区域分布群体进行基因型分布检测，获得中国人群 Y-SNP 位点多态性分布数据及群体遗传学数据库，可进一步丰富国内的 Y-SNP 数据库，为法医学领域中涉及性犯罪、犯罪嫌疑人筛查、亲缘关系追溯等实际应用提供基础研究数据和理论支持。在实践中，通过检测这几个特征性位点可将犯罪嫌疑人的地理来源和民族来源大体限定，提升案件侦破概率，维护法律的正义与尊严。

【参考文献】

[1] 郑秀芬. 法医 DNA 分析［M］. 中国人民公安大学出版社，2002.

[2] Underhill P. A., Shen P., Lin A. A., Jin L., Passarino G., Yang W. H., Kauffman E., Bonné-Tamir B., Bertranpetit J., Francalacci P., Ibrahim M., Jenkins T.; Kidd J. R., Mehdi S. Q., Seielstad M. T., Wells R. S., Piazza A., Davis R. W., Feldman M. W., Cavalli-Sforza L. L., Oefner P. J., Y chromosome sequence variation and the history of human populations［J］. Nature Genetics, 2000, 26（3）: 358-361.

[3] Jobling M. A., Tyler-Smith C.. The human Y chromosome: an evolutionary marker comes of age［J］. Nature Reviews Genetics, 2003, 4（8）: 598-612.

[4] Raheel Qamar, Qasim Ayub, Aisha Mohyuddin, et al.. Y-Chromosomal DNA Variation in Pakistan［J］. Am J Hum Genet, 2002, 70: 1107-1124.

Y-STR 部分基因座分型异常的探讨

张　彪，龙冠男，喻少波
（辽宁省沈阳市公安局刑事侦查局，110013）

1　血样的采集与 DNA 的提取方法

对迟家祖孙三代进行血样采集，分别装入血样袋。为了确保检测结果的准确性，排除其他外在因素的影响，按行标 GA/T 383-2014 规定分别用磁珠法和聚苯乙烯二乙烯基苯树脂法提取血样 DNA。

2　扩增与检测

2.1　常染色体 STR 扩增

均使用 PowerPlex 21 试剂盒进行 PCR 复合扩增 STR 基因座；扩增产物经 ABI-3130XL 型 DNA 测序仪检测，得到各检材的 STR 分型结果。经对比，其祖孙三代在 D3S1358 等 20 个基因座的等位基因均符合孟德尔遗传规律。

2.2　Y-STR 扩增

第一次使用的 golden eye 20YSTR 试剂盒，其后两次均使用的 PowerPlex23Y 试剂盒进行 PCR 复合扩增 Y 染色体 STR 基因座；扩增产物经 ABI-3130XL 型 DNA 分析仪检测，得到各检材的 Y-STR 分型结果。其中 DYS398 Ⅰ、DYS398 Ⅱ、DYS388 和 DYS439 出现双倍型。

3　讨论

Y 染色体属人类的性染色体，正常男性所特有。所有的 Y-STR 基因座位于同一条染色体上，不论物理距离的远近，均是连锁遗传。

大多数 Y-STR 在一个男性仅有一个等位基因，因为，Y 染色体特异区在细胞减数分裂时不参与重组与交换，所以其结构序列能稳定地由父亲遗传给儿子。故而，在混合斑迹鉴定、家系调查及缩小刑事侦查范围时起着准确高效的作用。

Y-STR 基因座的变异和突变率一般不超过常染色体突变率，与常染色体 STR 相比，Y-STR 更易发生“无效的等位基因”或多个等位基因。吴某微等对 4467 名浙江汉族无关男性个体 Y-STR 分型研究中发现 15 名个体共有 6 个基因座上呈现 2 个或以上的等位基因，但在检验中 DYS398Ⅰ、DYS398Ⅱ、DYS388 和 DYS439 同时出现双倍体等位基因的异常分型目前尚未见有报道。本实验经反复检验，常染色体 STR 与 Y-STR 图谱都呈现的非常纯净，完全排除了外来污染、提取方法和扩增试剂不同带来的影响。祖孙三代的 Y-STR 检测结果完全相同，说明上述 4 个基因座分型异常并非变异所来，或至少不是这三代变异的结果。在单拷贝基因座出现双倍体的异常分型表现，Saith 等提出电泳迁移率的异常与 DNA 互补链上的 AC/GT 含量有关，因此 DYS389Ⅱ基因座核心序列中的（AGAC）$_n$可能是造成基因座构象发生改变，进而导致基因座分型异常的原因。至于其他基因座是否可能由此类情况引起，需深入研究。

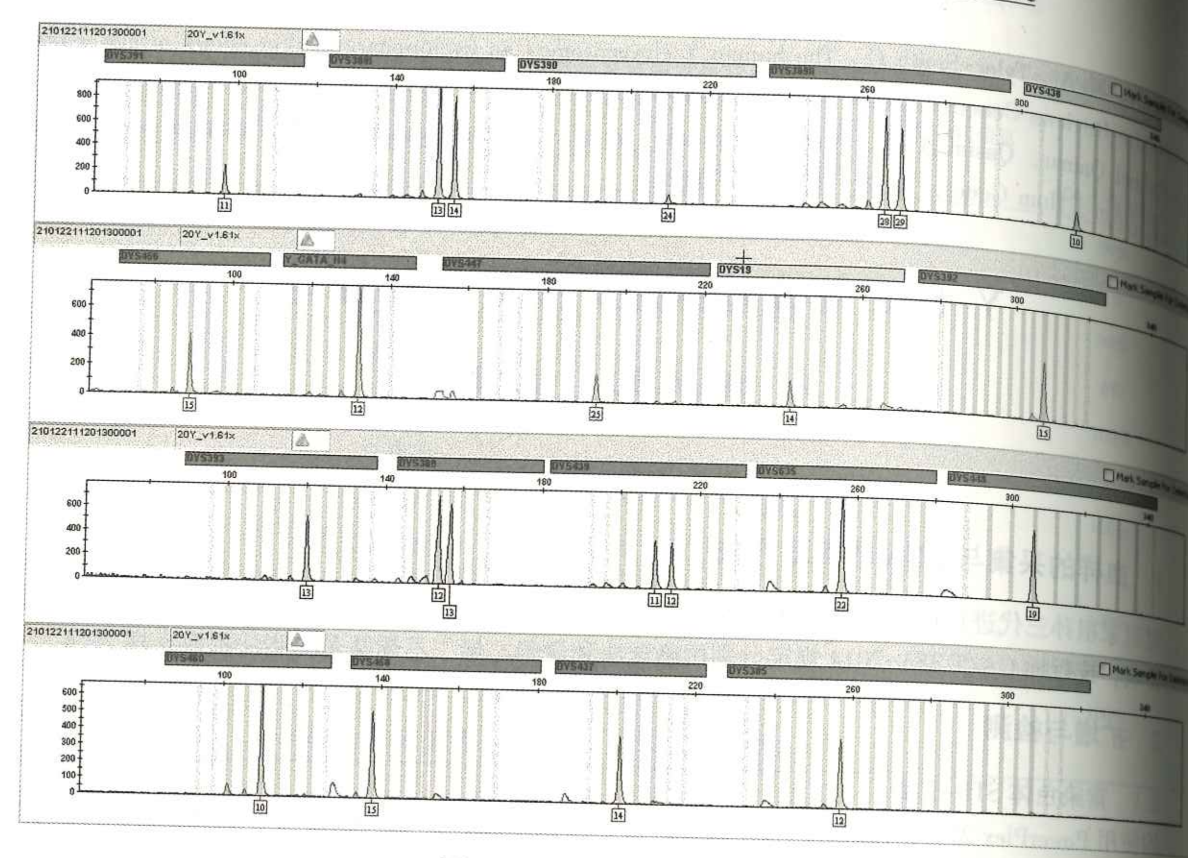


图 1　golden eye 20Y-STR 检测结果

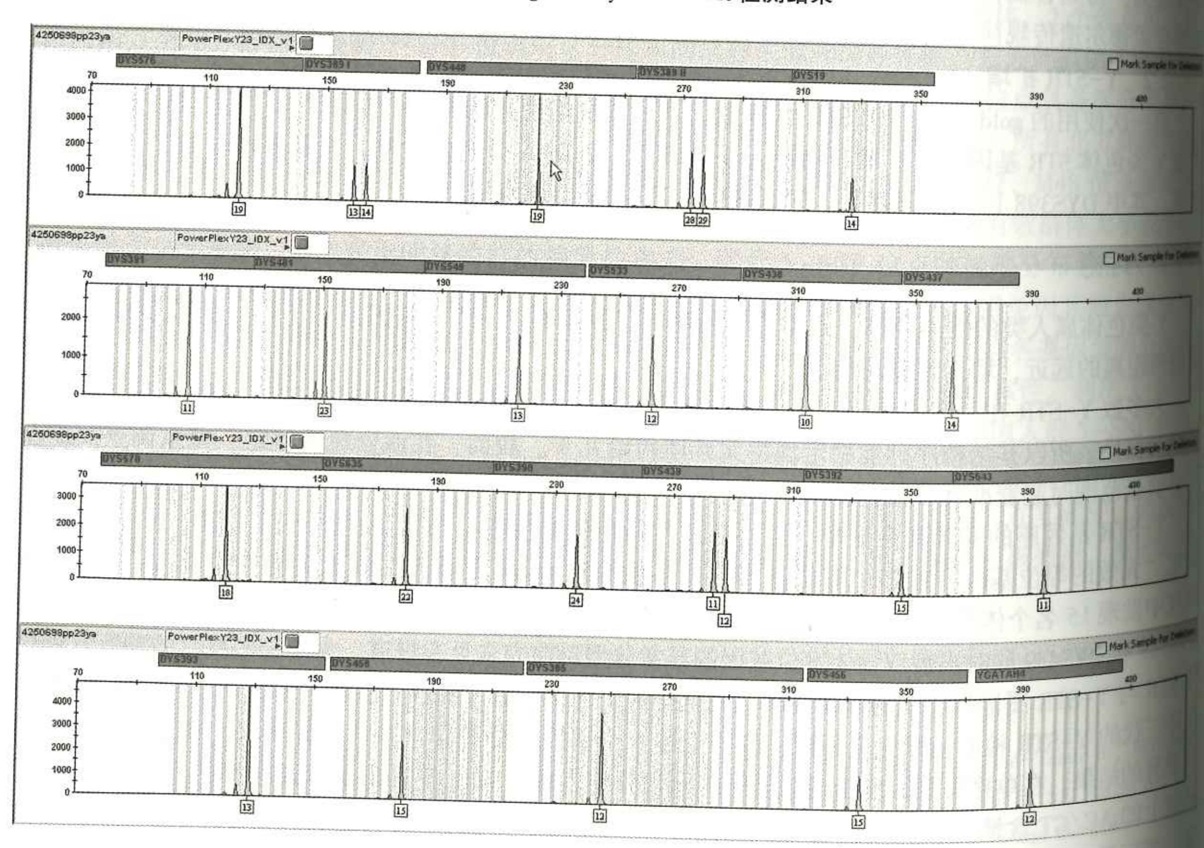


图 2　PowerPlex23Y-STR 检测结果

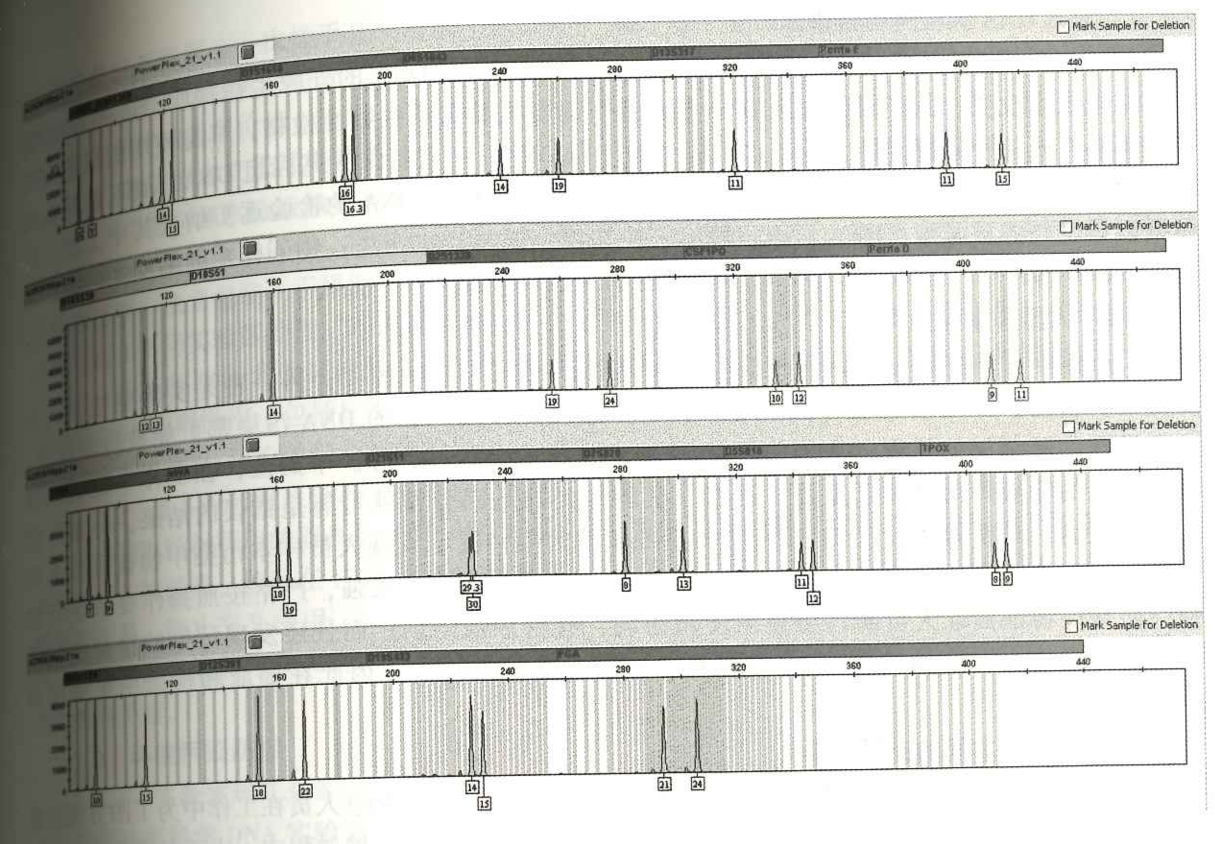


图 3　PowerPlex21Y-STR 检测结果

对于迟家直系三代的 Y-STR 检测出现的异常分型实属少见，在走访调查过程中发现迟家祖辈有精神分裂症病史，进一步研究时我们将对其进行基因测序，分析异常分型的原因与机制，探索遗传与疾病之间的关联。

【参考文献】

[1] 郑秀芬. 法医 DNA 分析［M］. 北京：中国人民公安大学出版社，2002：300.

[2] 吴微微，苏艳佳，章申锋，等. Y-STR 基因座的特殊分型现象［J］. 法医学杂志，2008，24（5）：355.

[3] Saitoh H.，Ueda S.，Kurosakia K，et al.. The different mobility of complementary strands depends on the proportion AC/GT［J］. Fronensic Sci Int，1998，91（2）：81-90.

法医 DNA 实验室的污染和防控

郑长发

（辽宁省大连市公安局西岗分局，116012）

近年来，随着法医 DNA 领域鉴定技术的飞速发展，DNA 检测技术的灵敏度也不断提高，检验所需的 DNA 模板量从 ng 级逐渐向 pg 级过渡。灵敏度的提高给更微量物证的检验带来了可能，但同时，高灵敏度也提高了 DNA 污染的机会。为了有效地避免 DNA 污染，保证检验结果的稳定和可靠，DNA 实验室要采取正确的方法和严格的措施来防范 DNA 污染。

1 法医 DNA 实验室污染来源

DNA 污染是指生物物证检材在提取或检验过程中混有含 DNA 的外源生物物质，造成 DNA 检验的结果发生改变。由于目前法医 DNA 检验是针对与人相关的生物性检材，本身使用的检测 STR 位点都具有人的种属特异性，所以这里提到的外源 DNA，一般特指人基因组 DNA，而不是其他的非人 DNA。但随着 DNA 实验室检测项目的不断拓展，动植物 DNA 的检验逐步纳入其中，相关的污染以后也要注意防控。DNA 污染一般有三个来源：人员样本污染；物证样本间的交叉污染；环境污染。

1.1 人员样本污染

人员样本污染主要分为两种情况：一种是物证提取人员的污染；另一种是实验室检验人员的污染。目前，DNA 分型技术具有非常高的灵敏度，即使少量的 DNA 污染都可能被检测出来，从而导致实验结果的错误。如因为现场勘查人员或实验室人员防护不到位，在工作中说话或咳嗽，飞溅的唾液降落到物证上面，这时，实验得到的基因分型就可能是错误的结果，将案件侦破引入歧途。马妍等统计天津 DNA 实验室 5 年的污染情况，发现人员样本污染中物证提取人员污染远多于实验室检验人员，说明实验室检验人员防污染意识较强，严格按照操作要求进行检验，而基层物证提取人员防污染意识还较薄弱，有待加强培训。而且还发现污染的检材中脱落细胞类污染最多，这类检材 DNA 含量低，更容易受污染影响，因此在提取和检验中更要注意防护。

1.2 物证样本间的交叉污染

交叉污染主要发生在物证的提取、运输和保管过程中。基层的勘察人员在工作中为了图方便经常将同类的检材混装在一个包装袋里面，如烟蒂、毛发等，在物证的运输过程中，由于颠簸震荡，物证间相互摩擦，污染就不可避免的发生了。此外，在物证的提取和检验过程中，所用的器具没有即使更换或清洗，也会造成物证样本间的交叉污染。

1.3 环境污染

所谓的环境污染其实就是指 PCR 污染。DNA 样本经过 PCR 扩增后，目的产物呈现几何级的倍增，如果在实验过程中移液操作不当，剧烈摇动反应管后开盖或反复吹吸，空气与液体表面产生摩擦，飞溅的 DNA 就会与空气中悬浮的粒子结合，形成气溶胶，当积累到一定程度就会造成严重的 PCR 污染。PCR 污染 DNA 图谱常表现为 ladder 状分型，影响实验结果的判读。

2 DNA 污染防控措施

2.1 人员污染防控

2.1.1 建立人员质控库

质控库是 DNA 数据库中设立的专门储存案发现场物证勘验及法医 DNA 实验室等相关人员 DNA 分型的子库，用于监测和发现物证样本 DNA 检验结果是否受到库中人员的污染。法医 DNA 实验室建立的质控库应涵盖从物证发现提取到 DNA 检验结果输出整个链上有可能影响检验结果的所有人员的 DNA 数据。它包括现场勘查人员、实验室检验人员、实习进修人员、仪器设备维保人员等可能接触现场物证或进入实验室的相关人员的 DNA 信息。利用 DNA 数据库的自动比对功能，在输出实验结果前，可有效发现 DNA 实验室中存在的人员污染，并加以解决。同时，质控库的有效使用需要确保各环节新增相关人员的 DNA 信息及时送检入库。

2.1.2 个人防护

现场勘查人员和检验人员因为工作中防护意识薄弱而造成的污染并不鲜见，如勘查时吸烟导致烟头遗留现场、不带手套碰到物证、不带口罩说话污染证据等。因此，勘查人员和检验人员在工作期间

必须穿戴好工作服、一次性手套、面罩（或口罩）、帽子等，在案发现场和实验室检验区要设立警示牌，防止外来人员误入。另外，还要加强对侦查人员及现场指挥人员防污染知识的普及，以确保现场获取生物检材的证据价值。

2.2 物证样本交叉污染防控

2.2.1 物证提取检验操作规范化

生物物证的提取、保存、送检和检验等各环节要实施规范化操作。涉案物证实施唯一编号管理，要分别提取、独立包装、干燥保存、及时送检。实验室内提取、检验生物检材时，现场物证和人员样本要分别在不同实验区处理。处理批量检材时，不要同时放到实验台上，需逐个操作，先处理微量检材样本，后处理 DNA 含量高的样本，并及时更换衬垫纸和手套，以防微量 DNA 检材被污染。实验室采用无 DNA 原则操作（包括标准的 Eppendorf 管的开、关方法，离心管的放置，移液器的使用和器具的消毒方式等），可有效控制污染的发生。

2.2.2 器具和耗材的使用

现场提取检材所用的器具最好为一次性的用品，重复使用的器具在处理检材后要及时清洗，然后采用环氧乙烷消毒，然后在 170℃烤箱内放置 90min，可有效防止 DNA 的污染。每提取一份物证，都要更换工具，防止交叉使用。实验区内备用的剪刀、镊子、离心管、吸头、棉签拭子等做到封装严密，定期清洗移液器与吸头接触的部位。工作时接打电话、触摸到其他可能含有外源性 DNA 物品时，都要更换手套。

2.3 环境污染防控

2.3.1 实验室规范分区

按照法庭科学 DNA 实验室规范，DNA 实验室必须设置提取、PCR 反应和检测三个区域。有条件的情况下还要设立初检区、试剂配制区和样本保管区等。人员样本和物证样本检验过程中实行隔离。各区域的仪器设备及耗材互不混用。无关人员不得进入检验区域，物证在各区域实现单向流动，防止检验过程中的交叉污染。各实验区设置独立的通风净化系统，进、排风管道独立分流，不得混用。检材处理与 DNA 检验全程要保持通风净化系统开启状态。实验区、超净台及生物安全柜定期通风，定期更换通风净化滤膜。

2.3.2 实验室清洁

进行定期清洁和消毒可有效防范实验室内部的交叉污染。清洁范围包括对工作台面、仪器设备表面、重复使用的工具或器皿等。重点部位是容易遗留有 DNA 的部位，如提取 DNA 工作台面、重复使用的剪刀及镊子、配制试剂所用的试剂瓶、移液器杆的吸头部位等。实验室清洁主要是采用擦拭清洗的办法，先用新鲜配制的 10%漂白液（7mM 次氯酸钠溶液）将需要清理物体的表面反复擦拭，再用 75%乙醇擦洗以去除残留物，可以有效清除它们表面附着的各种污染物，并定时进行紫外灯照射消毒。

2.3.3 设置对照样本和复核检验

在 DNA 检验过程中，平行设置不同类型对照样本检验，根据检验结果可以判断在实验中是否存在 DNA 污染，这是一种对实验室 DNA 污染进行监测的好方法。对照样本分为阴性对照和阳性对照两种：一种是阴性对照，又称空白对照，是指平行实验中设置的不含 DNA 样品的检验。实验室常用的是 PCR 阴性对照和试剂空白对照。PCR 阴性对照是在 PCR 反应时用水代替模板 DNA 进行反应的对照，主要用于监测 PCR 反应体系和 PCR 检验过程中 DNA 污染情况。试剂空白对照是使用所有检验试剂平行对空白样品进行检验的对照，主要用于监测检验全过程所用试剂的 DNA 污染情况。阴性对照的检验结果应该没有 DNA 谱带，一旦发现结果中有谱带出现，就表明有 DNA 污染的存在。另一种是阳性对照，是指在平行实验中设置已知分型的 DNA 样本，主要用于监测 DNA 分型结果的可靠性和准确性。用于阳性对照的 DNA 样本可以使用参考标准物质，如 9947A 或 2800M 等。当阳性对照的检

验结果产生多余的等位基因时，表明有 DNA 污染的存在，需要核查污染源，排除不合理的存在。特别注意的是，微量检材的检验结果太理想，要仔细研判是否为外源性污染所致，要做复核检验，确定是否有污染发生。

【参考文献】

[1] 陈松. 法医 DNA 实验室的 DNA 污染和防范［J］. 刑事技术，2007（3）：16-20.

[2] 马妍，匡金枝，朱巍，等. 法医 DNA 实验室污染问题分析与对策［J］. 中国法医学杂志，2014，29（4）：363-369.

[3] 蒋会勇，李海军，韩西群，等. PCR 实验加样过程中无 DNA 原则控制污染探讨［J］. 诊断病理学杂志，2005，12（1）：45-48.

[4] 中华人民共和国公安部. GA/T 382—2002 法庭科学 DNA 实验室规范［S］.

[5] 中华人民共和国公安部. GA/T 383—2002 法庭科学 DNA 实验室规范［S］.

织物载体血斑样本老化实验研究初探

钱　程，刘禹廷，杨百全

（吉林省公安厅物证鉴定中心，130000）

随着现代科技的不断进步，DNA 技术越来越受到重视。作为能够识别锁定犯罪嫌疑人的有力工具，DNA 检验技术在刑事案件检验中得到广泛应用，在重大疑难案件中发挥了重要作用。在实际工作中我们发现，陈旧血迹物证经常出现检验位点检出不全，甚至无法得到有效分型的现象。致使一些重大疑难命案积案侦破受到影响，陈旧血迹检验是目前 DNA 检验技术中经常遇到的难题，急需进行系统深入的研究。但是由于真正的陈旧血迹物证少之又少，非常珍贵，很难找到大量可用于陈旧血迹研究的检材。为解决陈旧血迹基础研究材料缺乏的问题，我们利用加速老化试验，模拟陈旧血斑形成过程，确定血斑老化过程的参数和规律，建立血迹老化实验模型，为研究陈旧血斑检材 DNA 检验提供基础数据和实验材料。

1　材料与方法

1.1　样本

血样采集卡 120 张（博坤公司，中国），新鲜人血 10mL。已知存放 9 年的血卡 5 张（博坤公司，中国）。

1.2　主要仪器与试剂

3130XL 遗传分析仪（AB 公司，美国）、9700 型 PCR 扩增仪（AB 公司，美国）、PowerPlex21 试剂盒（Promega 公司，美国）、打孔机（达博公司，中国），电热恒温培养箱（南京实验仪器厂，中国）。

1.3　方法

每张血样采集卡上均匀滴加 50μL 鲜血，阴干制成血斑卡。分成 6 组分别用烘箱 80℃烘干，烘干时间为 2h、4h、6h、8h、10h、12h，做成干燥程度不同的血卡。达博打孔机 0.5mm 孔径打孔，PowerPlex21 试剂盒扩增，扩增体系为 7μL，模板量为 0.5μL。9700 型 PCR 扩增仪扩增 30 个循环，3130XL 遗传分析仪电泳测序。GeneMapper 软件分析得到 STR 分型，计算统计峰高均值规律。同时等量检验已知 9 年血卡并做比较分析。

2　实验结果

实验所得 STR 分型图谱峰高均值经统计分析，得到变化规律如图 1 所示：

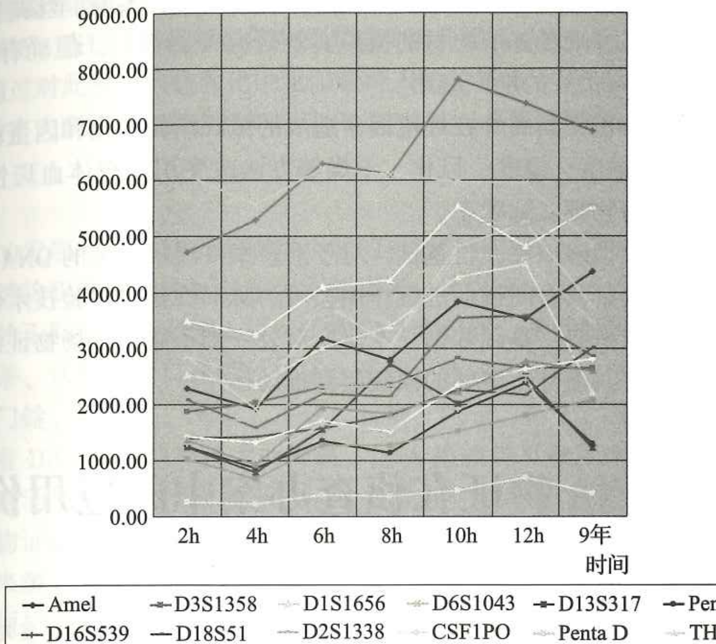


图 1

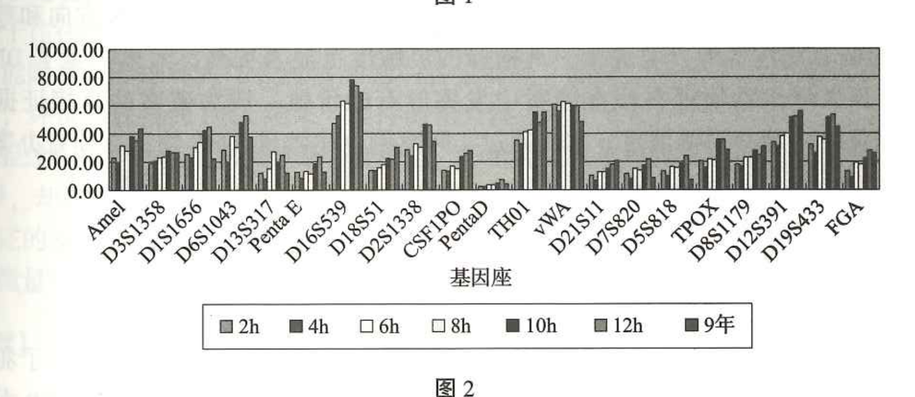


图 2

通过本实验我们发现：血样采集卡通过烘干处理之后，检测图谱峰值随着烘干时间延长而改变。所有卡片在 4h 时出现峰值下降现象，之后开始升高，当烘干时间达到 10h 时峰值达到顶峰，之后趋于稳定或略有下降。用已知陈年血卡等量扩增测序，所得峰高均值与上图比较，烘干 8h 至 10h 的血卡峰值最接近已知存放 9 年的血卡。模拟陈旧血斑的微观结构变化仍需进一步研究。

3　讨论

陈旧血斑检材是目前刑事技术 DNA 检验中常见的一类疑难检材，很多陈年案件中的血斑检材因时间、温度、湿度等环境影响，蛋白质发生变性，常规 DNA 技术方法中难以得到很好的 DNA 分型，使大量陈年积案的关键物证无法发挥其有效作用。为了解决这一难题，国内很多围绕陈旧血斑等陈年案件检材检验的研究。但是案件中能遇到的陈旧血斑检材量少且珍贵，不能用以大批量的研究使用。

所以模拟陈旧血斑检材替代实际陈旧血斑用于研究刑事案件现场物证 DNA 的提取，是目前刑事技术研究中需要的技术手段。

目前，国内外关于老化的研究方向较多，对于耐久中性纸张老化实验、聚丙烯进行加速老化实验，自然气候老化、人工气候加速老化等实验技术、木塑复合材料老化实验、丝绸进行光老化实验等方面有着深入研究。对于刑事案件现场陈旧检材的模拟实验研究尚属空白，但确有很好的可研究性，未来在 DNA 检验技术中可以得到很好的推广应用。

模拟陈旧血斑物证关键在于模拟其因外在环境因素造成的微观结构变化和因蛋白质变性造成的降解后 DNA 可提取量降低。通过温度、湿度、风化、干燥等方法改变织物载体血斑性质，使织物载体血斑性状接近案件现场陈旧血斑物证实际状态。

织物载体血斑老化实验是模拟陈旧性检材基础，对于刑事案件现场物证的 DNA 检验、理化检验、痕迹检验等检验技术手段的提高都具有间接促进性作用，可为陈旧性检材检验技术研究提供基础实验材料，并为物证检材微观性状改变提供基础数据。本研究对公安刑事案件现场物证的检验技术的提高具有重要意义，将对刑事案件尤其是陈年案件的侦破起到推动作用。

现场微量 DNA 物证在侦查办案中的应用价值

邓海涛[1]，钱 程[2]，冉令祺[1]

（1. 吉林省延边朝鲜族自治州公安局刑侦支队技术大队，133000；2. 吉林省公安厅物证鉴定中心，130000）

在现代犯罪行为中，现场物证呈现出多样化，微量化的发展趋势。现场勘查是侦查破案的开端，也是收集犯罪嫌疑人遗留痕迹和各种微量生物物证，判明案件性质，确定侦查方向和范围的重要途径。随着 DNA 检验鉴定技术的日益完善，其检验的灵敏度也显著提高，大大拓宽了 DNA 检验的范围，是许多潜在的微量生物物证在侦查破案中发挥应有的价值，成为破案的直接证据。但对微量 DNA 物证检验结果的应用必须要慎重，本文通过实际案例论述微量 DNA 物证在侦查办案中的实际应用价值。

1 案例资料

1.1 案例 1

2015 年 9 月 3 月，在延吉市河南街的一特产专卖店被盗，勘查人员在现场发现了犯罪嫌疑人遗留的作案工具撬棍，经过对撬棍一端手柄上脱落细胞的检验，得到一完整的男性 STR 分型，入库后比中犯罪嫌疑人金某，将犯罪嫌疑人抓获后，其对犯罪事实供认不讳。

1.2 案例 2

2016 年 6 月 30 日，龙井市居民李某家被盗，现场遗留了犯罪嫌疑人用过的开锁工具，技术人员将开锁工具送至 DNA 实验室，经过对开锁工具上的微量 DNA 检验入库比对，比中一张姓男子，几天后在吉林市抓获张某，但是张某拒不供认犯罪，后经过查实张某一直在吉林市，没有作案时间，张某被排除犯罪嫌疑。案件破获后，据犯罪嫌疑人朴某交代，开锁工具是其从朋友张某处得到的。

1.3 案例 3

2014 年 3 月 9 日，延吉市一丰田牌黑色轿车被盗后，被犯罪嫌疑人丢弃，后来在被盗车辆内提取了烟蒂一枚，经检验入库后并没有比中犯罪嫌疑人，案件久而未破，最后经排查，该烟蒂系被盗车主的父亲所遗留，其不具备犯罪条件，非本案犯罪嫌疑人。

2 案例分析

案例 1 通过对犯罪嫌疑人使用过的工具上的脱落细胞的提取和检验，直接比中犯罪嫌疑人，破获案件。近年来，随着 DNA 数据库的建设和应用，每年通过微量 DNA 物证直接比中案件的数量越来越多，使微量生物物证在杀人、强奸、盗窃、爆炸等案件中发挥越来越重要的积极作用。案例 2 中犯罪嫌疑人将他人物品带到犯罪现场，通过对此物品的检验比中犯罪嫌疑人的关系人（朋友），为侦查破案提供了间接证据。案例 3 中烟蒂实为被害人亲属所遗留，起初扰乱了侦查视线，最终经过排查确定，此物证不相关。

3 讨论

随着科学技术的发展和犯罪分析反侦察技能的提高，犯罪分子的作案手段日趋智能化、隐蔽化、专业化，犯罪分子消除犯罪遗留物证的意识不断增强，本文通过 3 个典型案例论述了微量 DNA 物证在侦查破案中起到的不同作用。案例 1 提示了我们只要犯罪分子到过现场，都会或多或少遗留下脱落细胞，如遗留在烟蒂、饮料瓶、口香糖、筷子、汤匙、牙签、吸管、咬痕、口罩上的口腔脱落上皮细胞，遗留在电话、门铃、门把手、围巾、手套、衣物、帽子、袜子、拖鞋、钥匙、手表、眼镜上的脱落上皮细胞等。随着 DNA 纯化浓缩技术的提高，DNA 检验的灵敏度也大大提高，如利用 M48C 磁珠方法提取，利用全自动核酸纯化仪提取等，从这些微量生物物证上得到 STR 分型的可能性也越来越大，这使微量生物物证的作用越来越大，但是通过案例 2 和案例 3 看到，在勘验现场时，提取物证之前一定要弄清物证来源是否与案件有关，是否与勘验人员有关，有时可能来源于发现人，报案人，被害人及其亲属，必须排除这些外源性污染后，认定与案件有关，才能使其发挥有效的作用。日常检案中，微量生物物证不易提取，提取后不易检出，因此检出后如何正确应用，是能否发挥微量生物物证在侦查破案中作用的关键，首先，负责案件侦破和现场勘查的警务人员应该树立全新的生物物证观念，善于在犯罪现场发现，收集各种非常规的生物物证。特别是在一些外围现场或案犯蹲守地等关联现场，犯罪分子往往会在不经意间遗留更多的微量生物物证。对于盗窃，抢劫等多发侵财案件，尤其要注意收集可能附着犯罪嫌疑人体表脱落细胞的各类物品；其次，要学会对收集到不同的接触 DNA 物证进行分析，评价其获得的 DNA 结果与案件的相关性。

在案件检验过程中，微量生物物证是否有价值，是否与案件相关联非常重要，检验人员千辛万苦检出的 DNA 结果，却被误用或是根本没有用，不但不能起到证据作用，还可能误导侦查方向，导致案件久侦不破。物证的检出一定要与物证的提取、来源，以及整个送检过程相结合，与案件相结合，形成单一链条，明确微量生物物证是否为犯罪嫌疑人所留，使其在案件中发挥更为精确的指导作用。

【参考文献】

[1] 郭显超. 微量生物 DNA：能发挥重要作用的生物物证［J］. 河南公安高等专科学校学报，2010，8（4）.

QIAcube 全自动法医疑难检材核酸纯化仪提取 DNA 中之初探

邓海涛，冉令祺

（吉林省延边朝鲜族自治州公安局刑侦支队技术大队，133000）

在我们日常的 DNA 检验过程中，经常会遇到各种各样的物证，由于有些检材太过陈旧、检材腐败、抑制物干扰等原因，往往检出率会很低，且检出效果也不理想。比起 Chelex－100 提取法，

QIAcube全自动法医疑难检材核酸纯化仪能真正实现对胶膜纯化柱进行全自动操作，能将我们从烦琐的手动操作中解放出来，轻松实现样本制备从手动到自动化的升级，而且速度快，应用范围广。为了更好的服务侦查破案及最大限度地发挥物证的作用，在近两年的日常检案中本人通过对QIAcube全自动法医疑难检材核酸纯化仪提取检材的使用情况和效果进行了一些初步探索，供今后生物检材DNA提取实验参考。

1 材料与方法

1.1 样本

选取陈旧烟蒂80枚，微量血痕30份，腐败肋软骨25份，唾液斑类检材50份（包括矿泉水瓶口、饮料瓶口、果核、陈旧口香糖等），脱落细胞50份（包括手套、衣服、帽子、作案工具等）。以上共235份检材均已用Chelex-100提取法重复提取过两次实验，未能检见完整清晰的DNA分型谱带。

1.2 主要仪器与试剂

3130XL遗传分析仪（AB公司，美国）、9700型PCR扩增仪（AB公司，美国）、QIAcube全自动法医疑难检材核酸纯化仪（Qiagen公司，德国）、QIAamp DNA Investigator Kit试剂盒（Qiagen公司，德国）。

1.3 方法

将检材剪碎置于1.5mL的离心管中，加入280μLALT试剂及20μLPK酶，振荡混匀，56℃干浴60min，离心2min，去除载体，将300μL上清液转移至套管的外管里放置在模块上，将套管的内管放在适配器里，并与模块上的检材名称要对应一致。在试剂槽内依顺序放好QIAamp DNA Investigator Kit缓冲液，枪头槽里放好足量的枪头，然后设置好相关的疑难检材DNA纯化程序，点开始，进行自动化操作。约40min后，取出洗脱管，管内留有20μL的洗脱产物，将洗脱产物用Identifiler-Plus试剂盒进行复合扩增，样品扩增体系为10μL，DNA模板量为4μL，在9700型扩增仪中进行30个循环扩增，扩增产物通过3130XL遗传分析仪检测，GeneMapper软件进行分析。

2 实验结果

在已经使用Chelex-100法提取，未能检见完整DNA分型的上述235份检材在通过QIAcube全自动法医疑难检材核酸纯化仪联合使用QIAamp DNA Investigator Kit试剂盒进行全自动化操作后，经过PCR和电泳检测后结果统计见下表。可以看出STR分型检出成功率大大提升，通过对这两种方法的对比更为清晰直观地指出了这一点。

表 经过PCR和电泳检测后结果

检材类别	检材总数	成功数	成功率（%）
陈旧烟蒂	80	75	93.4
微量血痕	30	28	93.3
腐败肋软骨	25	24	96
唾液斑类（包括矿泉水瓶口、饮料瓶口、果核、陈旧口香糖等）	50	38	76
脱落细胞类（包括手套、衣服、帽子、作案工具等）	50	24	48

3 讨论

法医物证实验室，遇到烟蒂、血痕等常规检材时会选择Chelex-100法进行提取，但在去除干扰扩增和检测杂质的能力是相当有限的，取得的DNA纯度并不高。QIAcube全自动法医疑难检材核酸纯化仪适用于各种检材的DNA提取，尤其适合微量血痕、陈旧烟蒂、腐败肋软骨、脱落细胞等各种法医疑难检材，操作过程安全简单，全自动化，减少污染环节，可消除大部分操作过程中的不确定因素。

QIAcube全自动法医疑难检材核酸纯化仪使用QIAGEN硅胶模纯化柱，操作者无须更换原有手工试剂，可直接应用于QIAcube实现全自动操作；内置震荡加热模块，试剂耗材模块及分离模块，由机械臂实现样品转移，每轮可纯化12份疑难检材。

本实验选用的检材均是微量、腐败及陈旧的检材，且都是经Chelex-100法检验未检出或未能得到完整DNA基因型结果。通过结果我们不难看出QIAcube全自动法医疑难检材核酸纯化仪对于常规Chelex-100法未检出的现场微量血痕、陈旧烟蒂、腐败肋软骨、脱落细胞均有较高的检出率，与Chelex-100法相比有质的飞跃。使提取的检材充分收集微量DNA，最大限度地提高DNA纯化率。

总之，利用QIAcube全自动法医疑难检材核酸纯化仪结合QIAamp DNA Investigator Kit试剂盒在实验室里对各种疑难检材，陈旧、腐败、微量检材的DNA提取，可以最大限度地利用检材，简便快速，全自动操作，最终能大大提高检出率。

【参考文献】

[1] 郑秀芬. 法医DNA分析［M］. 北京：中国人民公安大学出版社，2002：122-125.

国产DNATyper19™试剂盒的适用性研究与应用示范

杨 乐[1]，龚 政[1]，丛 欣[1]，王 典[1]，李 然[1]，马温华[2,3]，张 建[2,3]

（1. 黑龙江省哈尔滨市公安局，150010；2. 公安部物证鉴定中心，100038；
3. 北京市现场物证检验工程技术研究中心，100038）

本研究应用DNATyper19™试剂盒和Identifiler™ Plus试剂盒对410例血斑、精斑、脱落细胞、骨骼、牙齿等各类案件生物检材DNA进行平行扩增，从分型结果一致性、图谱完整性等方面进行分析，对DNATyper19™试剂盒在各类案件生物检材的检验效能进行测试。

1 材料与方法

1.1 检材

410例生物检材均来自本实验室日常检案积累，其中包括：血斑50例、精斑50例、脱落细胞（烟蒂50例、瓶子30例、工具40例、帽子30例、衣服50例、手套30例）230例、骨骼50例、牙齿30例。

瓶子、工具采用生物物证提取专用棉签（公安部物证鉴定中心）两步擦拭法提取。帽子、衣服、手套采用脱落细胞粘取器（长春博坤生物技术有限公司）粘取。血斑、精斑、烟蒂直接剪取。

1.1.1 仪器与试剂

Maxwell 16提取工作站（Promega公司）、9700型PCR扩增仪（AB公司）、3500XL型遗传分

析仪（AB 公司）；Chelex-100、QIAamp DNA Investigator Kit（Qiagen 公司）、DNA IQ™ Casework Pro Kit（Promega 公司）、MagAttract M48 DNA Manual Kit（Qiagen 公司）、QIAquick PCR Purification Kit（Qiagen 公司）、DNATyper19™试剂盒（公安部物证鉴定中心）、Identifiler™ Plus 试剂盒（AB 公司）。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取

用 Chelex-100 法提取血斑 DNA；用 QIAamp DNA Investigator Kit 提取精斑 DNA；用 DNA IQ™ Casework Pro Kit 提取烟蒂和瓶子 DNA；用 MagAttract M48 DNA Manual Kit 提取工具、帽子、衣服和手套 DNA。操作过程按照试剂盒和仪器说明书进行。用硅膜法提取骨骼和牙齿 DNA，操作过程按照参考文献进行。

1.2.2 PCR 扩增

应用 DNATyper19™试剂盒和 Identifiler™ Plus 试剂盒，在 AB 9700 型 PCR 扩增仪上对上述检材 DNA 进行 PCR 扩增，操作过程按照试剂盒和仪器说明书进行。DNATyper19™试剂盒和 Identifiler™ Plus 试剂盒均采用 10μL 扩增体系进行扩增。瓶子、工具、帽子、衣服、手套、骨骼、牙齿 DNA 模板量为 4μL，血斑、精斑、烟蒂 DNA 模板量为 1μL。

1.2.3 电泳检测

扩增产物经 AB 3500XL 型遗传分析仪进行检测，采用 GeneMapper ID-X 软件进行结果分析，操作过程按仪器说明书进行。

2 结果与讨论

2.1 血斑的检验结果

应用 DNATyper19™试剂盒和 Identifiler™Plus 试剂盒对 50 例血斑进行检验，2 种试剂盒在相同基因座上获得的检验结果一致。DNATyper19™试剂盒和 Identifiler™Plus 试剂盒对某血斑的检验结果如图 1 所示。

2.2 精斑的检验结果

应用 DNATyper19™试剂盒和 Identifiler™ Plus 试剂盒对 50 例精斑进行检验，2 种试剂盒在相同基因座上获得的检验结果一致。DNATyper19™试剂盒和 Identifiler™Plus 试剂盒对某精斑的检验结果如图 2 所示。

2.3 脱落细胞的检验结果

230 例脱落细胞，经 DNATyper19™试剂盒成功检出 197 例，经 Identifiler™ Plus 试剂盒成功检出 202 例。共同检出的同一样本中，共有基因座上两种试剂盒分型结果完全相同。DNATyper19™试剂盒和 Identifiler™Plus 试剂盒对某手套的检验结果如图 3 所示。

2.4 骨骼和牙齿的检验结果

80 例骨骼和牙齿，经 DNATyper19™试剂盒成功检出 72 例，经 Identifiler™ Plus 试剂盒成功检出 75 例。共同检出的同一样本中，在共有基因座上两种试剂盒分型结果完全相同。DNATyper19™试剂盒和 Identifiler™Plus 试剂盒对某骨骼的检验结果如图 4 所示。

2.5 两种试剂盒检出率的统计学分析

对 230 例脱落细胞、80 例骨骼和牙齿、的实验数据进行统计学分析，比较两种试剂盒的检出率，图谱中获得 13 个 STR 基因座以上（包括 13 个 STR 基因座），RFU（相对荧光单位）值大于等于 50 的样本判定为检出样本，结果见表 1 和表 2。结果表明，两种试剂盒对脱落细胞、骨骼、牙齿的检出率无统计学差异（P>0.05）。

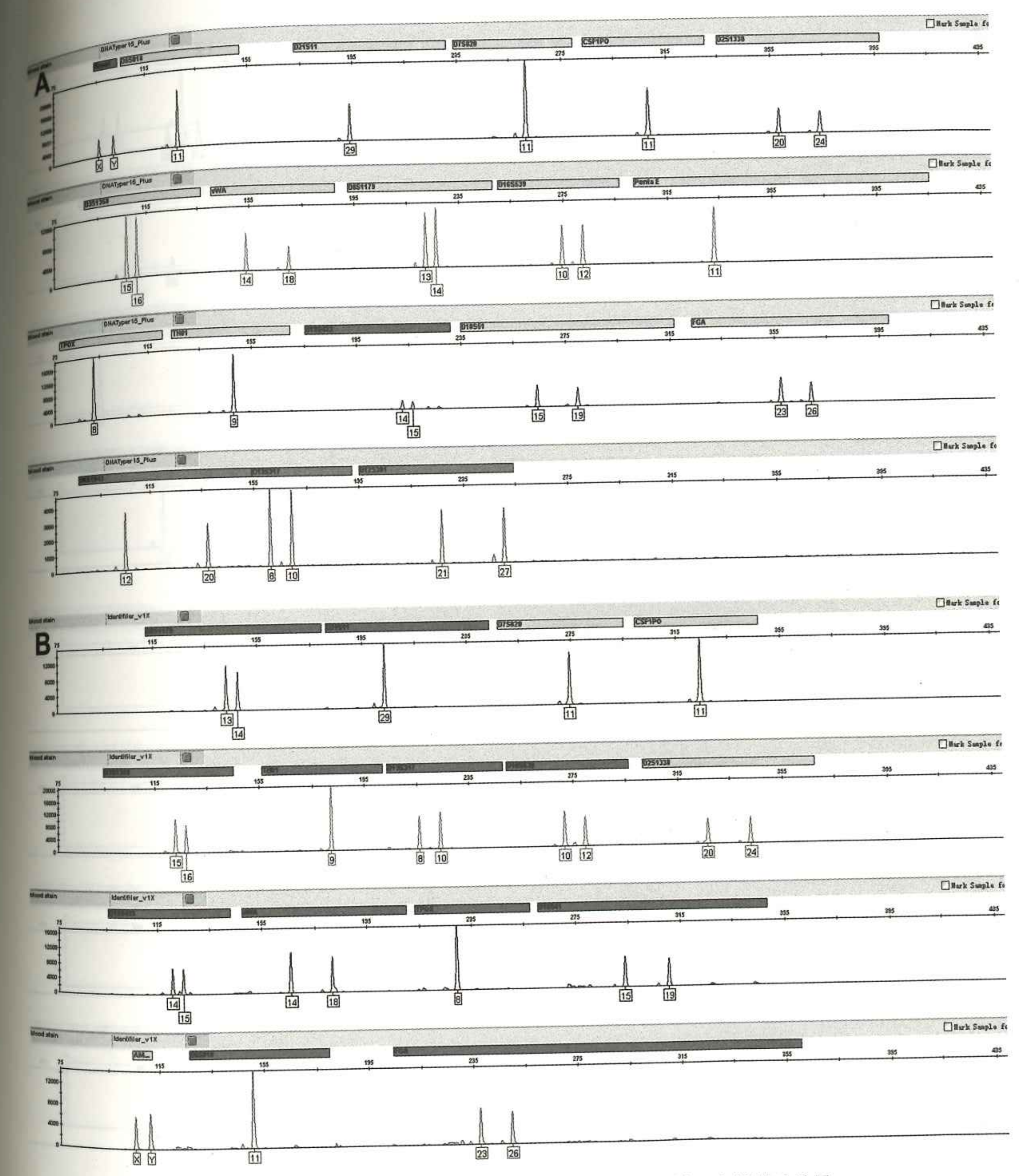


图 1 DNATyper19™试剂盒和 Identifiler™Plus 试剂盒对某血斑的检验结果

A：DNATyper19™试剂盒 B：Identifiler™Plus 试剂盒

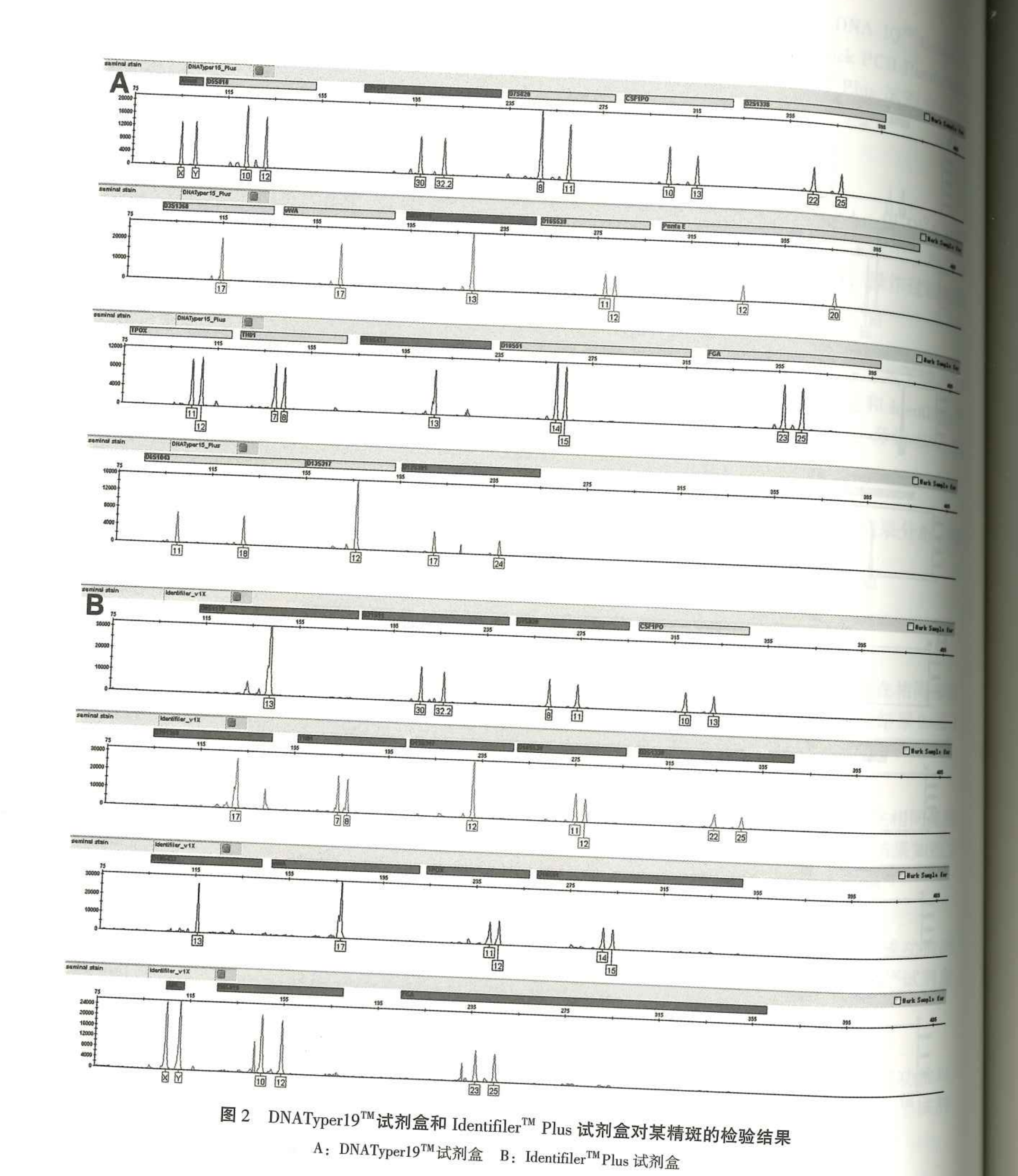


图 2　DNATyper19™试剂盒和 Identifiler™ Plus 试剂盒对某精斑的检验结果

A：DNATyper19™试剂盒　B：Identifiler™Plus 试剂盒

图 3　DNATyper19™试剂盒和 Identifiler™ Plus 试剂盒对某手套的检验结果

A：DNATyper19™试剂盒　B：Identifiler™Plus 试剂盒

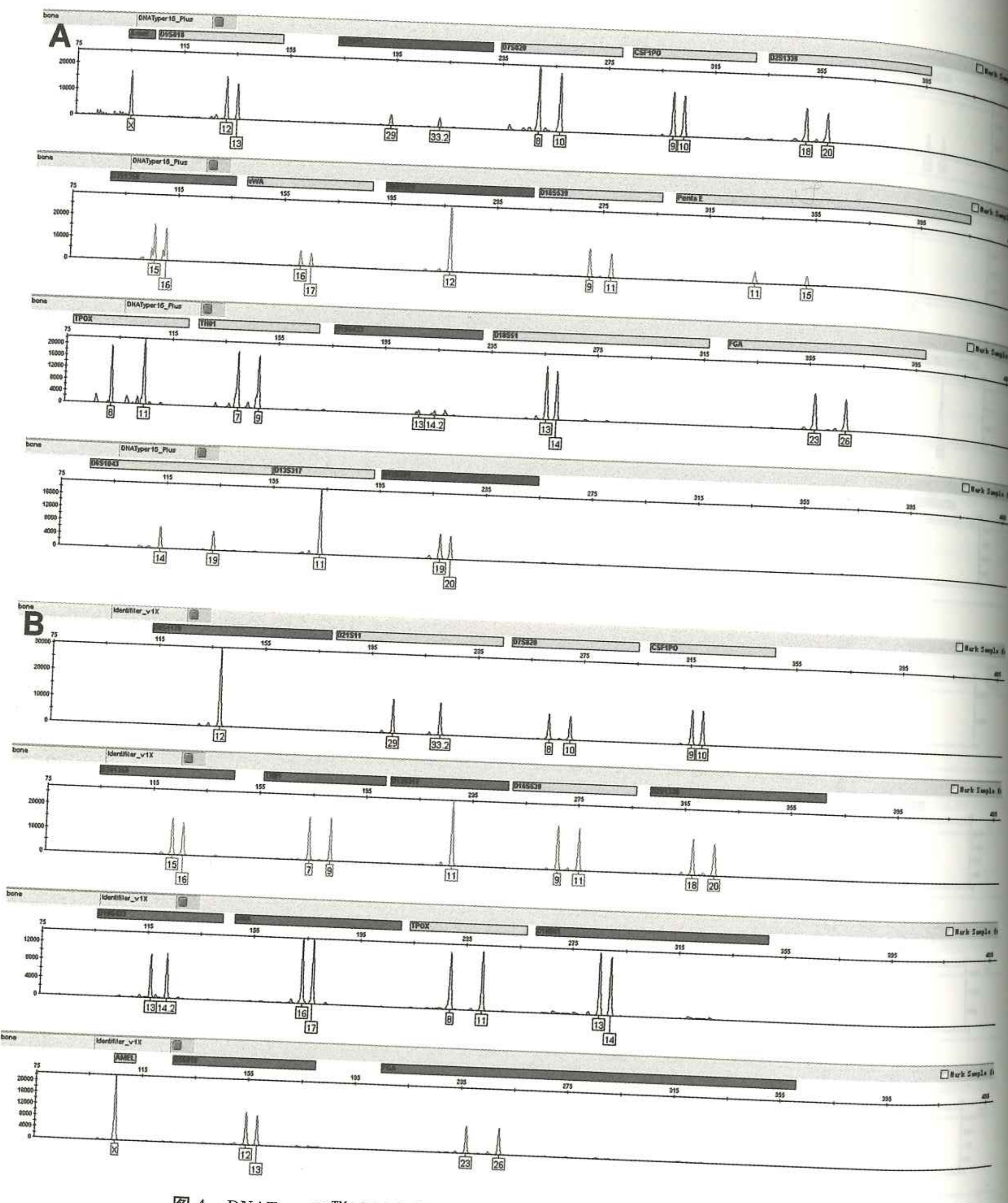


图 4　DNATyper19™试剂盒和 Identifiler™ Plus 试剂盒对某骨骼的检验结果

A：DNATyper19™试剂盒　B：Identifiler™Plus 试剂盒

表 1　两种试剂盒对脱落细胞的检出率

检材类型	例数（检出率%）		P-value
	Identifiler™ Plus 试剂盒	DNATyper19™试剂盒	
烟蒂（50）	50	50	（0.911>0.05）
瓶子（30）	30	30	
工具（40）	22（55）	20（50）	
帽子（30）	25（83.33）	23（76.67）	
衣服（50）	48（96）	48（96）	
手套（30）	27（90）	26（86.67）	
合计（230）	202（87.83）	197（85.65）	

表 2　两种试剂盒对骨骼和牙齿的检出率

检材类型	例数（检出率%）		P-value
	Identifiler™ Plus 试剂盒	DNATyper19™试剂盒	
骨骼（50）	47（94）	45（90）	（0.921>0.05）
牙齿（30）	28（93.33）	27（90）	
合计（80）	75（93.75）	72（90）	

综上，50 例血斑和 50 例精斑经 DNATyper19™试剂盒检验均获得完整清晰的谱带和稳定的分型结果，与 Identifiler™ Plus 试剂盒在 15 个共有基因座上分型结果完全相同，未检见等位基因丢失现象。230 例脱落细胞，经 DNATyper19™试剂盒成功检出 197 例，经 Identifiler™ Plus 试剂盒成功检出 202 例。80 例骨骼和牙齿，经 DNATyper19™试剂盒成功检出 72 例，经 Identifiler™ Plus 试剂盒成功检出 75 例。共同检出的同一样本中，在共有基因座上两种试剂盒分型结果完全相同。两种试剂盒对脱落细胞和骨骼、牙齿的检出率无统计学差异。国产 DNATyper19™试剂盒能对各类案件常见生物检材进行准确基因分型，可应用于法医日常检案。

【参考文献】

[1] 涂政，刘志芳，陈松，等. 牙齿的 DNA 提取及 STR 分型研究［J］. 刑事技术，2007（5）：9-11.

[2] 涂政，石屹，张广峰，等. 一种焚烧骨骼的 DNA 提取方法［J］. 刑事技术，2016，41（1）：77-79.

关于 DNA 数据库建设的几点体会

邹广发

（黑龙江省大庆市公安局刑事技术支队，163311）

大庆市位于黑龙江省的西南部，面积约 1 万多平方公里，常住人口 280 多万，下设 6 个区、4 个县，是以石油产业为主的工业化城市，大庆市于 2011 年开始投入 900 万元着手违法犯罪人员 DNA 数据库建设，在 2011 年年底正式开展高通量转换违法犯罪人员常染色体 STRDNA 数据

的工作，从 2012 年至 2017 年 3 月底，大庆 DNA 数据库中共有违法犯罪人员数据 433023 人，DNA 数据已全部转换完毕，通过 DNA 数据库自动比对功能比中各类刑事案件共 1237 起，破获了省内、省外一系列有影响的重特大刑事案件，通过对这些数据进行统计、分析，发现消耗大量人力、财力，大规模、大范围开展人员 DNA 样本采集、检测与其在侦破刑事案件中发挥的作用不相称。

1 DNA 数据库实验室建设情况

2011 年年初，大庆市政府一次性投入资金 900 万元，建立了面积为 200 个平方的 DNA 数据库实验室，内设样本保存室、打孔室、样本提取室、扩增上样室、检测上样室、数据检测室、数据分析室及配剂室 8 个相对独立的功能区，配备了 3500XL 基因分析仪和 3130XL 基因分析仪各 1 台，9700A 型扩增仪 6 台，BIOMEK 自动化工作站 3 台，其中有 BIOMEK NXT-96 1 台、BIOMEK NXT-8 1 台、BIOMEK3000 型 1 台，台式高速离心机 2 台，平板离心机 1 台及相关仪器、设备；前期采集样本时统一使用吉林—博坤生产的加厚型 DNA 样本血液采集卡和口腔脱落细胞采集卡，转换数据使用公安部物证鉴定中心生产的 Typer-15-plus 试剂盒检验，打孔取样由 BSD600 打孔仪半自动完成，从信息采集、录入、DNA 检验、STR 分型入库比对环节，全程使用条形码控制，完全按照国家实验室认可的各项标准执行，确保 DNA 数据库转换数据的科学、准确。

2 DNA 数据库中各类数据情况

大庆市 DNA 数据库目前共有各类 DNA 数据 450616 条，其中，现场物证 7348 条，受害人信息 3484 条，犯罪嫌疑人信息 2944 条，未知名尸体信息 147 条，失踪人员亲属信息 1509 条，违法犯罪人员信息 433023 条等，通过建立违法犯罪人员 DNA 数据库比中并破获各类刑事案件 1237 起，其中直接破获杀人案 27 起，强奸案 71 起，抢劫案 62 起，交通肇事案 61 起，盗窃案 802 起，掩饰、隐瞒犯罪所得案 79 起，伤害案 41 起，诈骗案 23 起，涉毒案件 9 起，破坏公共设备案件 24 起，未知名尸体案 20 起，绑架、非法拘禁案 5 起，其他案件 13 起。

3 比中案件的数据统计情况

3.1 按违法犯罪人员性别统计

共转换违法犯罪人员数据 433023 份，其中男性 363379 份，占 84%，女性 69644 份，占 16%。比中犯罪嫌疑人中男性 1220 名，占 98.7%，女性 17 名，占 1.3%。

3.2 按违法犯罪人员年龄统计

共转换违法犯罪人员数据 433023 份中 25 岁及以下 30016 名，26~35 岁 118283 名，36~45 岁 116394 名，46~55 岁 114733 名，55 岁以上 53597 名。比中 1237 名犯罪嫌疑人中 25 岁以下 73 名，占 5.9%，26~35 岁 693 名，占 56.1%，36~45 岁 285 名，占 23%，46~55 岁 136 名，占 10.9%，55 岁以上 50 名，占 4.1%。

3.3 按涉案人员数量和比中案件数量统计

转换违法犯罪人员数据 433023 份，其中涉及八类案件人员样本数量为 86605 人，占 20%，外来务工人员、高危人群等非涉案人员样本数量为 346418 人，占 80%，其中涉案人员样本比中各类案件的数量为 1101 起，占 89%，非涉案人员样本比中各类案件 136 起，占 11%。

3.4 按血液采集卡和口腔采集卡数量和转换效率统计

在 433023 份人员样本中，血液采集卡 180205 份，占 41.61%，采用直扩法一次数据转换成功率

达到 98.9%，口腔采集卡 252818 份，占 58.39%，采用直扩法一次数据转换成功率达到 86.6%。

4 依据统计数据讨论的几点体会

通过建立违法犯罪人员 DNA 数据库比中犯罪嫌疑人的自然概况的统计数据发现：

在近五年转换的 433023 份数据中男性占 84%，女性占 16%，而在比中犯罪嫌疑人中男性占 98.7%，女性占 1.3%，年龄在 26~35 岁的违法犯罪人员再次犯罪的概率（占 56.1%）和其他年龄段相比，比例明显偏高。

在近五年转换的 433023 份数据中其中涉及八类案件人员样本数量为 86605 人，占 20%，而涉案人员样本比中各类案件的数量为 1101 起，占比中案件总数的 89%，符合“二八定律”，即 80%以上的案件是由 20%的少数涉案人员作案，且血液采集卡采用直扩法数据转换一次成功率达到 98.9%，远高于口腔采集卡采用直扩法数据转换成功率的 86.6%。

基层公安机关在建立违法犯罪人员 DNA 数据库时，首先保证涉及八类案件的违法犯罪人员样本必须全面采集，不能遗漏，在首次检验未检出 STR 数据情况下，应及时补采样本，确保 DNA 数据库中有其 STR 数据存在，其次采集人员样本时，要充分考虑数据转换成本、转换效率及样本的保存时限，在采集涉案人员样本时，建议优先选择采集血液样本。

在人员、设备、资金保障等条件充裕的情况下，可以考虑适度采集非涉案人员样本，但最好优先选择男性、年龄在 26~45 岁的外来务工人员或高危人群的样本进行采集，不要盲目贪求采集数量和采集规模，我市转换了 346418 人非涉案人员样本，但只比中了 136 起各类刑事案件，且其中绝大多数都是盗窃案，从前期样本采集到后期数据转换等所花费的人力、物力、财力与其在侦查、破案中发挥的作用相比严重不对称，其性价比极低，这为准备建立违法犯罪人员 DNA 数据库的单位起到了启示的作用。

大庆地区 DNA 数据库破案数据分析

贾士友

（黑龙江省大庆市公安局刑事技术支队，163311）

近几年，黑龙江省公安机关不断加强 DNA 数据库建设，公安机关 DNA 数据库在案件侦破中发挥了突出作用。到 2016 年年底，全省拥有 DNA 有效数据 157.9 万条；仅 2015—2016 年两年间，利用 DNA 数据库直接破案 2148 起；占全省破案总数的 2.54%。大庆市公安机关 2008 年启动 DNA 数据库建设，到 2016 年年底，全市数据库拥有数据量 38.4 万份，DNA 数据库数据容量达到辖区人口的 13.7%，占全省 DNA 数据库总量的 24.3%；2015—2016 年两年间，大庆 DNA 数据库破案 500 余起。占全市破案总量的 5.36%；占全省 DNA 数据库破案总数的四分之一。现对大庆市 2015—2016 年利用 DNA 数据库破案数据统计分析，为进一步做好数据库建设及更好发挥数据库作用提供理论基础。

1 DNA 数据库破获 507 起案件分析

2015—2016 年大庆市利用物证 525 件破案 507 起。其中，应用现场物证 229 件，比中犯罪嫌疑人 217 人，直接破案 217 起；利用 279 份建库样本，比中案件 290 起。现对破获案件及比中人员情况做以下统计：

1.1 破获案件地域分析

在 DNA 数据库直接破获的 507 起案件中，发案地统计：本市案件 376 起，占 74.2%；本省案件 22 起，占 4.3%；外省案件 109 起，21.5%（见图 1）。

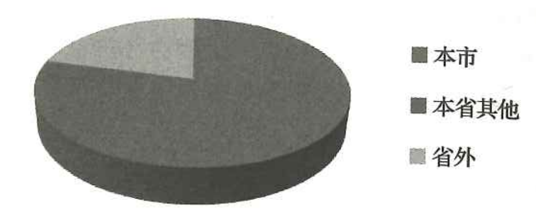


图 1　破获案件地域

1.2 涉案样本的采集单位分析

破获的 507 起案件涉及入库的样本 498 份，其中，本市采集 467 份，占总数的 93.8%；本省采集份，占总数的 1.6%；省外采集 22 份，占总数的 4.4%。（其中 16 份样本未录入采集单位）（见图 2）。

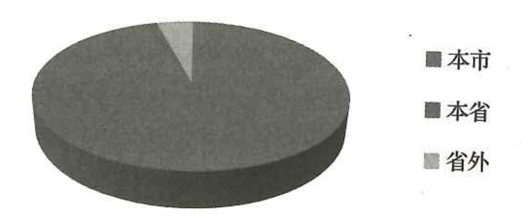


图 2　样本采集单位

1.3 涉案样本人员户籍地分析

破获的 507 起案件中，涉及破案样本 498 份，其中，本市户籍 202 人占样本总数的 40.6%；本省其他地市户籍 185 人占样本总数的 37.1%；省外户籍 114 人，占样本总数的 23.7%（见图 3）。

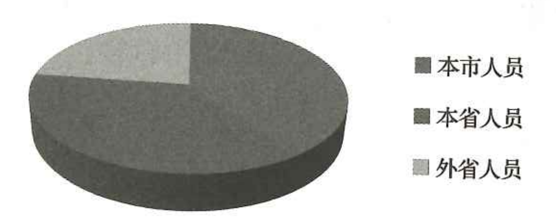


图 3　涉案样本人员户籍地

1.4 破获案件种类分析

DNA 数据库直接破获的 507 起案件中，案件种类统计如下：

（1）“十类案件”187 起（入室盗窃 100 起；抢劫 23 起；强奸 25 起；杀人 10 起；纵火 1 起，破坏 8 起；绑架 2 起；伤害 18 起），占比中案件总数的 36.9%。

（2）除入室盗窃以外的其他盗窃案件 239 起（盗窃原油案件 127 起；车内盗窃案件 30 起；室外等案件 24 起），占比中案件总数的 47.1%。

（3）其他刑事案件 17 起（涉毒案件 3 起；诈骗 4 起；抢夺 2 起；非法拘禁 2 起；涉黑案件、扒窃、妨碍公务、遗弃、敲诈各 1 起），占比中案件总数的 3.4%。

（4）非刑事案件（交通、除杀人外的非正常死亡、未知名尸体确认等）53 起；占比中案件总数的 10.5%。

（5）不能提供案件类别的案件（外省）10 起。占破获案件总数的 2%（见图 4）。

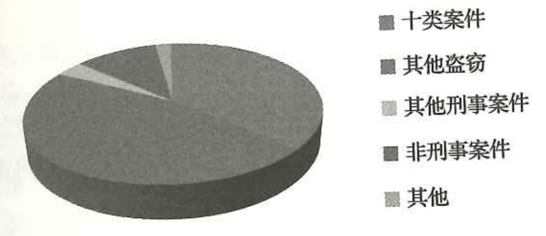


图 4　破获案件种类分析

1.5 涉案物证分析

在利用案件现场 525 件生物物证破获的 507 起案件中，物证种类分析统计：

（1）现场提取犯罪嫌疑人遗留物（衣服、帽子、口罩、眼镜、作案工具等）50 件，占破获案件应用物证的 9.8%。

（2）现场提取犯罪嫌疑人遗弃物（水瓶、烟蒂、饮料瓶、口香糖等）321 件，占破获案件应用物证的 63.3%。

（3）转移提取犯罪嫌疑人可能接触部位脱落细胞的 26 件，占破获案件应用物证的 5.1%。

（4）常规提取现场斑迹（血斑、精斑、唾液斑）及组织的 108 件，占破获案件应用物证的 21.3%（见图 5）。

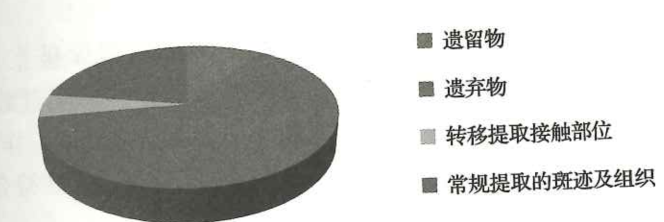


图 5　涉案物证类型

1.6 涉案人员年龄分析

在破获的 507 起案件比中人员信息中，有 44 人数据库内没有年龄信息；24 起以前积案。依据破获的 2015—2016 年现案，符合条件统计条件的人员 439 人（见图 6）：

15 岁以下 5 人；15~20 岁 31 人；20~25 岁 59 人；
25~30 岁 86 人；30~35 岁 76 人；35~40 岁 62 人；
40~45 岁 68 人；45~50 岁 35 人；50~55 岁 12 人，
55~60 岁 9 人；60 岁以上 2 人；

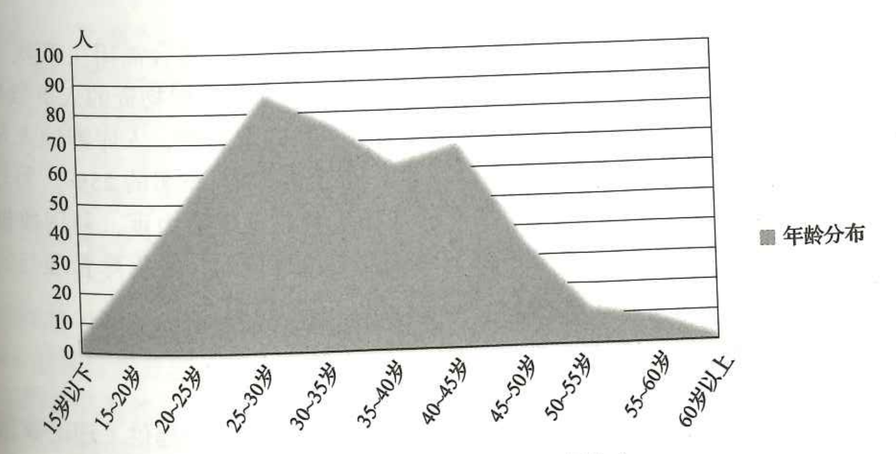


图 6　涉案人员数量与年龄段分布

2 立足本地，服务整体充分发挥 DNA 数据库效能

在对大庆市公安机关 2015—2016 年 DNA 数据库破案数据分析，显现了数据库建库规模、建库对象及建库方式对 DNA 数据库发挥应有的作用至关重要。注重相应因素的调整，才能充分发挥 DNA 数据库作用。

2.1 依托全国数据库加强本地 DNA 数据库建设，更好的服务本地刑事办案

大庆公安机关自 2008 年建设以来，每年通过数据库破案均在 200 余起，占全局破案总量的 5%以上，破获了一批有影响的重特大案件。从统计数据来看，利用数据库破获的案件，有 74%为本地案件；比中的人员样本有近 94%为本市建库中采集。虽然信息化建设是“人人为我，我为人人”，但区域内建立数据库与国家数据库相联系，最大受益方还是建设数据库部门本身，DNA 数据库建设中，各级公安机关应结合本地实际，尽快建立适应本地需求的 DNA 数据库，依托全国数据库资源，发挥信息化破案的突出作用。

2.2 结合本地实际确定数据库建库进程

大庆公安数据库数据拥有量占全省数据库总量的 24.3%，利用数据库破案占全省 DNA 破案总数的 25.7%。本地数据库拥有量占上级库数据库量比例近似于本地数据库破案数占上级库数据库破案数比例。数据库数据量增长与破案数增长同步进行。

黑龙江公安 DNA 数据库总量占全省人口数的 4.1%；DNA 数据库破案总数占全省破案数的 2.54%；大庆 DNA 数据库总量占全市人口的 14.2%；破案总数占全市破案总数 5.36%。按照辖区人口比例计算，DNA 数据库建库比例增加 2~3 倍，破案效率增加 1 倍。所以，作为不同层面的 DNA 数据库增量与破案增量非同比例关系，各地应结合本地资源、人口类型，建立符合自己需求、性价比较高的数据库。

2.3 结合本地实际确定重点采集对象

2.3.1 加大外来人口 DNA 样本采集比例，提高大庆破案增长点

大庆流动人口 44.5 万，是全省流动人口的 21%。2008 年建库伊始，在注重多采集 DNA 样本的同时，根据大庆地区多年来案件统计中外来人员作案比例高的特点，强化外来人口的样本采集意识，对于外来大庆务工、经商的人员，在办理居住证过程中，必采 DNA 样本。破获的 507 起案件中，涉案人员非大庆户籍人员样本 299 份，这些样本有 270 份是大庆采集的，即破获的涉及外来人口案件的样本中，本市采集的占 91.2%。所以扩大样本采集数量的同时，更应该注重采集对象。更好提高数据库破案效率。

2.3.2 结合本地实际发案特点确定建库方向

大庆市公安部门，加大“十类案件”现场生物物证利用的同时，结合油田生产实际，加大了涉油案件管理，强化盗窃原油案件现场生物检材提取同时，建立了盗窃油田物资的人员数据库，涉油数据库人员的 DNA 信息采集是人员管理的必采项。由于盗油作案的重复性，入库涉油人员样本发挥了重要作用，数据库破获的案件中，盗窃原油案件 127 起，占全部 DNA 破案的 25%。另外，针对盗窃车内财物案件突出的特点，加大盗窃车内财物案件的现场生物物证提取力度，利用数据库直接破案 30 起；占全部 DNA 数据库破案的 6%。结合本地实际建立数据库同时，数据库管理与发案特点相结合、与现场勘查信息相结合，与案件信息结合，起到了 1+1>2 的作用。

3 强化管理，突出重点，提高 DNA 数据库建库质量

两年来 DNA 数据库诸要素分析中，为 DNA 数据库服务公安工作方向提供了理论数据，进一步提高了 DNA 数据库应用效率，实现精确打击目标奠定了基础。

3.1 规范建库信息录入项目，实现精确打击目标

在本次统计的 496 份样本中，有 16 份没有记载采集单位信息，占总数的 3.2%。有 8 份无户籍的信息。占样本总数的 1.6%；有 10 起案件不能提供案件类别信息。占破获案件总数的 2%。有 44 人没有年龄信息，占样本总数的 8.9%。

这些信息不完善情况的存在，在数据库比对成功后，给案件核实、串并及人员抓捕造成较大困难。由于建库中很小的失误，数据库应用效率降低。为防止类似情况的发生，数据库建库要求身份证号等多个必填项，依靠完善的制度和有效的监督落实，保证数据库打击目标的实现。

3.2 科学划分可勘现场的案件类型，扩大可勘现场数量

在以往的现场勘查工作中，特别注重“十类案件”的现场勘查和生物物证的提取。在数据统计中发现：通过数据库破获的“十类案件”只占 36.9%；而除入室盗窃以外的其他盗窃案件占所有破案的 47.1%，高于“十类案件”，这要求公安机关对可勘查案件范围；在“十类案件”的基础上，加大其他盗窃案件的现场勘查比例。虽然各级公安机关实施了所有案件全部勘查的工作实施，但在数据分析中显示能够提取到生物物证的诈骗、抢夺、扒窃、妨碍公务、敲诈、涉毒、非法拘禁、涉黑、遗弃等十多种类案件只占比中案件总数的 3.4%。这些数据为公安机关划定“可勘现场”案件种类提供了依据。非刑事案件现场提取生物物证破案或为办案提供依据的占所有案件破案的 10.5%，数据库为刑事案件侦查办案服务的同时，逐渐服务于全警。

3.3 提升现场生物物证的提取和应用能力

现场生物物证应用是从现场血斑、精斑、组织等常规物证开始，随着脱落细胞检验技术的不断成熟，利用脱落细胞检验破获案件比例逐渐增高。在本次统计中：常规提取现场斑迹及组织的案件占总体破案的 21.3%；而利用遗留物、遗弃物、接触部位转移提取脱落细胞破案的占 78.2%；远远高于传统生物物证的应用力度，由于这些物证不被犯罪嫌疑人重视，或犯罪嫌疑人不可避免遗留的性质，脱落细胞检验破获案件还将是今后一个时期生物物证应用的重点。

在遗留物、遗弃物、接触部位转移提取物证的统计中。利用遗弃物提取脱落细胞检验破案占 63.3%；利用遗留物提取脱落细胞检验破案占 9.8%，接触部位转移性提取脱落细胞破案仅占 5.1%。在关注遗留物、多发现遗弃物的同时，现场勘验人员应重点提高对接触性脱落细胞转移提取能力。提高现场勘查人员对犯罪嫌疑人接触部位的判断能力、创新接触性脱落细胞的提取方法、优化转移性脱落细胞 DNA 检验程序，增加转移性脱落细胞检验 DNA 入库比例，进一步提高 DNA 数据库的破案效能。

另外。在破获现案的 439 名犯罪嫌疑人年龄统计中。15 岁开始，随着年龄段增长，作案人群比例开始增长，到 25~30 岁作案人群比例达到高峰，以后随着年龄段的增长，作案人群比例逐渐减少，到 60 岁降到最低。数据显示，增长速率是下降速率的 2 倍。这些数据指导公安案件防控及侦查破案的同时，也为 DNA 数据库建设对象提供理论数据。如按照年龄段，将人口作案风险分为几个人群：小于 15 岁的风险前期人群；15~25 岁的风险上升期人群，25~40 岁人的风险期高峰人群；40~60 岁的风险下降期人群；60 岁以上的风险后期人群。在数据库建设中，重点强化风险前期期、风险上升期及风险期的 15~40 岁人群 DNA 样本采集，做到应采必采；强化 40~60 岁下降期人群采集样本，能采就采；对于 60 岁以上的风险后期人群不主张采集。争取利用有效资金，进一步提高 DNA 数据库建库效率。

作为公安科技信息化代表的 DNA 数据库应用，为公安机关侦查办案、社会管理提供了有力的支撑，如果 DNA 数据库建设能够结合本地实际情况，确定建设规模，做到因情实策；把数据库建设与刑事案件现场勘查机制相结合运用，做到相互促进；与本地发案形势及突出特点相衔接，做到有的放矢；结合数据库不同模块的功能创新性管理，做到综合性应用。多措并举，促进 DNA 数据库在服务公安办案、服务社会管理上做出更大成绩。

提升犯罪现场生物检材采集能力的实践与总结

王 滨
（黑龙江省七台河公安局，154600）

随着 DNA 检验技术的快速发展，特别是以接触性检材为主的疑难检材呈爆发态势增长，给现场生物检材采集工作带来了诸多考验，现场接触性检材的有效采集是提高 DNA 提取成功率的根本。

1 针对现场生物检材采集方面存在的常见问题，加强采集人员培训

现场生物检材情况复杂，通常还是靠现场勘察员的个人经验与手法，尤其对接触性检材的提取，所以提高现场勘查人员采集接触性检材的能力是决定实验室检出率的关键因素。

采集手法不一给 DNA 的后续检验特别是检材处理过程带来很大的工作量，特别是 DNA 人员对案件现场实际情况不完全深入了解的时候。

包装不规范，造成检材与检材间污染，导致案件证据误判或伪串并案，检材保存方式不当、送检不及时等。

没有对现场进行缜密的分析，对重点部位进行有效采集。

针对上述问题，刑事技术部门要加强对人体生物检材提取方法的培训，必要时 DNA 技术人员针对性出现场，加强对现场提取生物物证的指导。

2 选择适宜的采集现场人体生物检材用品，规范采集方法

棉签是应用的最为广泛的生物样本采集产品。

棉签质量是采集质量的关键因素。一定要保证样本采集时用生物物证棉签等专业产品。

规范采样方法，避免给实验室 DNA 提取检材时带来困扰：统一采用传统的两步法擦拭，注意两步擦拭法中所用水的质量、水量在作业中的差别，污染的水会导致检材污染，水的量也会影响检材提取的量，润湿棉头的水量根据擦拭面积的大小选择 10 微升为宜，微微润湿棉头尖端即可，用棉签采集物证时建议用棉签尖端头部垂直检材表面反复用力擦拭，可以有效减小棉头与载体的接触面积，要关注擦拭次数与转移的脱落细胞量，通常 20 次为宜。

脱落细胞粘取器利用膜片的黏性面直接粘取接触性检材载体表面上的脱落细胞，不要用同一粘取器进行大面积采集，易产生混合样，为数据分析增加难度。对欲大面积采集的区域建议进行分区后用多个粘取器分别采集各个分区，垂直基底部越用力粘取效果越好，并且不少于 20 次，但是粘取器有一定的范围适用性，下面是粘取器和棉签适用性表格（见表 1、表 2）：

表 1 首先按照基底外观选择

	潮湿表面	有油渍表面	凸凹不平表面	灰尘覆盖表面	较大面积干净平整表面
棉签	√	√	√	√	○
粘取器	×	×	×	×	√

注：√，适用性好；×，不适用；○，适用性一般。

表 2 进一步按照基底材质选择

	玻璃	金属	油漆面	塑料	实木	橡胶	纸、信封	衣物布料
棉签	√	√	○	○	○	√	×	○
粘取器	×	√	√	√	√	×	√	○

注：√，适用性好；×，不适用；○，适用性一般。

3 现场防污染问题

刑事案件现场 DNA 污染指的是 DNA 检材在现场保护或者刑事案件现场勘查过程中混有含 DNA 的外源性生物物质，造成 DNA 检验的结果发生变化，从而不能准确还原现场。主要形式有：直接接触如手、肘等身体部位的接触，衣物或其他不干净物品的接触；间接接触如唾液喷溅等。

3.1 外界人源性污染：关注现场指挥、现场媒体、围观群众

应第一时间保护现场，并在案发现场外围拉好警戒线，限制无关人员进入；在案发中心区要严格限制所有人进入，对因案件需要而进入该区域的人要进行防护，如使用口罩、帽子、鞋套等。

3.2 外界人源性污染：勘验人员一定要做好防护

所用口罩要罩住口鼻部，所用帽子要罩住全部头发，所穿防护服要罩住全部衣服（根据实际情况），所穿鞋套要扎到裤腿口（最好是过膝的鞋套），所用手套要用至少两层手套（PE 打底），手套扎紧袖口，切不可徒手接触手套的指掌处。淘汰纱线、布类手套、有粉类手套。

3.3 外界人源性污染：避免交叉污染

一次提取一件检材，并注意保护采集的样本，单独包装，避免样本间的交叉污染。采集时使用无 DNA 污染的采集产品，反复使用的器械在使用后要严格的清洗消毒。尽量用专业的物证箱，不要将所有物品杂乱的放在一起，从根源上减少污染。

STR-PCR 技术辅助检验唐氏综合征及其父权指数计算

张 俐，宋 薇，杨 军，戚文杰，崔 洋，周顶涛
（上海市公安局闵行分局，201108）

唐氏综合征（Down's syndrome），又被称为 21-三体综合征，是发病率较高的常染色体疾病，也是一种严重的出生缺陷。其临床表现多伴有器官组织异常，较为突出的是颅面部畸形，智力障碍，除此之外还常伴许多较严重的先天发育异常。

在亲缘鉴定实践中，会遇到有三体综合征患者的鉴定委托，但委托人往往会隐瞒病情，或者因是胎儿、新生儿未知该病情，未告知病情。这时仅依靠单个 STR 基因座的分析，是无法准确地识别出是否存在三体综合征的。三体综合征的准确诊断，必须依靠多个 STR 基因座复合分析，或者结合染色体核型分析。

陈振斌等在应用 STR 进行亲缘鉴定的日常工作中时，发现信号强度明显不同的 2 条扩增带图谱，但他们并非唐氏患者。仅凭 1 个 STR 基因座的三体带型而无其他 STR 基因座的 2：1 带型作为辅助诊断，对唐氏进行基因诊断存在一定的风险性，因为有可能其中一条为非特异扩增条带。美国基因耐克公司（Genaco Biomedical Products，Inc.）研制的唐氏综合征 PCR 产前诊断试剂盒，用生物素标记引物后对 6 个 STR 基因座进行分型和半定量分析，认为 95% 以上的唐氏患者至少有一个基因座为 3 条

带，据此作定性诊断，而 2：1 带型作辅助确诊。

1 案例资料

受理亲缘鉴定案 1 例。

1.1 材料

样本：父亲（27 岁），母亲（24 岁），争议女儿（提供出生证），取 3 人末梢血各一份。

1.2 方法

提取：三人末梢血采用聚苯乙烯二乙烯基苯树脂法提取 DNA。

PCR 扩增：使用 AGCU EX22 试剂盒（中德美联）在 9700 型扩增仪（AB）上对样品进行扩增；扩增体系为 12.5μL。

毛细管电泳荧光检测：使用 3500XL 型基因分析仪（AB）检测扩增产物，确定其 DNA 分型。

1.3 结果

D21S11 基因座女儿表现为三带型等位基因（见图 1），3 个等位基因的信号强度、峰高和峰面积之比约为 1：1：1。Penta D 基因座女儿表现为两带型等位基因（见图 2），但 2 个等位基因的信号强度、峰高和峰面积之比约为 2：1。根据分型结果，其父母无异常，受检女儿额外的 21 号染色体，源自卵子第一次减数分裂时染色体不分离，推断女儿的额外染色体来源于母亲。除 D21S11、Penta D 基因座外，其他基因座父亲、母亲和女儿符合孟德尔遗传规律（见表 1）。

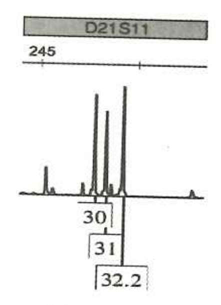


图 1 孩子 D21S11 基因座

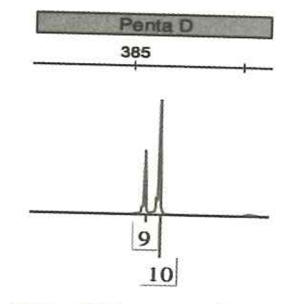


图 2 孩子 Penta D 基因座

表 1 基因分型结果

检测基因座	父亲		孩子		母亲	
D3S1358	15	16	15	17	16	17
D13S317	8	12	12		8	12
D7S820	8	10	8	12	11	12
D16S539	11	13	10	13	10	11
Penta E	11	20	11	15	14	15
D2S441	10	11	10	11	10	13
TPOX	8		8		8	
TH01	9		7	9	7	
D2S1338	19	23	19	20	17	20

续表

检测基因座	父亲		孩子		母亲	
CSF1PO	13		13		12	13
Penta D#	9	10	9	10	9	10
D10S1248	13		13	15	13	15
D19S433	13	15.2	14	15.2	14	
vWA	14	19	14	16	14	16
D21S11*	28	32.2	30，31	32.2	30	31
D18S51	15	16	15	20	17	20
D6S1043	12	14	13	14	13	20
D8S1179	10	13	13	16	10	16
D5S818	11	12	11	12	11	12
D12S391	18		18		18	24
FGA	23	24	20	24	20	23
Amelogein	X	Y	X	X	X	X

注：#，出现二等位基因，但峰型面积约 2：1 的异常基因座；
*，出现三等位基因的基因座。

1.4 三联体（母—子—父）STR 三体基因座 PI 值计算方法

唐氏综合征在活产婴儿中的发病率（Morbidity，m）为 1/650－1/1000，即减数分裂同源染色体不分离而致使 ANd 被传递的概率为 1/650～1/1000。用 m 代表该概率，分别推导在孩子已经确诊为三体综合征情况下，STR 三体基因座的 PI 值计算方法。P、Q、R、S 分别代表该 STR 基因座上的四个等位基因，其基因频率分别为 p、q、r、s，且任意两个等位基因不分离概率均为 m。

母权肯定的三联体 STR 基因座 P＝X/Y

X＝（M 传递生母基因的概率）×（AF 传递生父基因的概率）

Y＝（M 传递生母基因的概率）×（随机男子传递生父基因的概率）

例 1 M 表型为 PR，AF 表型为 PQ，C 表型为 PQR，且三个等位基因的 RFU 值均接近 1：1：1。

$X=0.5\times m+m\times 0.5=m$ $Y=0.5\times 2qrm+0.5\times 2pqm+m\times q=m\ (q+qr+qp)$

$PI=X/Y=1/(q+qr+qp)$

例 2 M 表型为 PQ，AF 表型为 PQ，C 表型为 PQ，且等位基因 P 与 Q 的 RFU 值约为 2：1。

$X=0.5\times m+m\times 0.5=m$ $Y=0.5\times p^2m+0.5\times 2pqm+m\times p=m\ (0.5p^2+pq+p)$

$P=X/Y=1/(0.5p^2+pq+p)$

例 3 M 表型为 P，AF 型为 P，C 表型为 P。

$X=1\times m+m\times 1=2m$ $Y=1\times p^2m+m\times p=m\ (p^2+p)$

$PI=X/Y=2/(p^2+p)$

表 2　STR 三体基因座三联体 PI 计算方法

	基因型					基因型			
	母亲（M）	孩子（C）	假设父亲（AF）	父权指数 PI		母亲（M）	孩子（C）	假设父亲（AF）	父权指数 PI
等位基因 RFU 值约 2∶1	PQ	P※Q	PQ	$1/(0.5p^2+pq+p)$	等位基因 RFU 值约 1∶1∶1	PR	PQR	PQ	$1/(q+qr+pq)$
	PR	P※Q	PQ	$0.5/pq$		PQ	PQR	RS	$0.5/(pr+qr+r)$
	PQ	P※Q	PR	$0.5/(0.5p^2+pq+p)$		RS	PQR	PQ	$1/2pq$
	PQ	P※Q	P	$3/(2pq+2p+p^2)$		PP	PQR	QR	$1/2qr$
	P	P※Q	PQ	$3/(4pq+2q)$		QR	PQR	PP	$1/(pq+pr+p)$
	QR	P※Q	P	$1/p^2$	纯合子（单个等位基因峰）	PQ	P	P	$1/p^2$
	P	P※Q	QR	$1/(4pq+2q)$		P	P	PQ	$0.5/(p^2+p)$
	Q	P※Q	P	$1/p^2$		P	P	P	$2/(p^2+p)$
	P	P※Q	Q	$1/(2pq+q)$					

注：※表示该等位基因 Rfu 值较高。

按该方法计算出，三者之间的累计亲权指数（CPI 值）达 2.15×10^9；亲缘关系概率达 99.99%以上，达到了亲权认定的标准。

2　讨论

STR 分型技术在个体识别、亲缘鉴定中广泛应用，其准确性和稳定性均达到了实际应用的水平，在公安刑侦、民事诉讼及日常公安管理中发挥了重要作用。本文在日常亲缘鉴定检验中，通过采用实验室已经建立的荧光复合扩增技术的标准操作程序检出唐氏综合征，且后续通过临床确诊为唐氏综合征，提示 PCR 扩增技术亦适用于唐氏综合征疾病的辅助诊断。

应用 STR 基因座越多，杂合性越高，子带显示 3 条不同等位基因带的可能性越大，则诊断唐氏综合征就越准确，亦可提高对额外染色体亲缘性的判断。

许多学者证明了人类绝大多数 STR 基因座有种属特异性，这意味着非人类来源的 DNA 模板在较高滴度或温度下，PCR 在 D21 基因座上无扩增产物。因此，细菌污染虽然会引起 DNA 降解，但对 PCR 扩增产物的特异性影响不大。

同时，当 STR 基因座等位基因片段小于 200bp 时，PCR 扩增敏感度高，对微量样本、受细菌污染、腐败影响的检材仍可成功扩增。除了肿瘤组织和进行了骨髓移植的人，STR 基因座在一个个体的不同组织的基因型中都具有同一性。因此，这种方法对唐氏综合征患者的含有一定量有核细胞的各种检材都适用，如患儿外周血样本、患儿口腔脱落上皮、胎儿绒毛细胞、胎儿羊水细胞等。

仅分析 1~2 个 STR 基因座很难见到 3 条带型图谱，而只根据 2∶1 的 2 条带就做出三体的诊断存在一定的风险，因为模板量和 PCR 的循环圈数等诸多因素均可影响 STR 基因座内 2 个等位基因扩增产量的比值。故在亲缘鉴定中，若 21 号染色体出现 3 条带时可考虑唐氏综合征，但是在检测基因座

中未出现三带亦不能排除。

另外，还有几点需要注意：扩增的基因座均为纯合子时，需要细胞遗传学方法来辅助诊断，虽然这种情况占的比例不是很大。唐氏综合征为异位型或嵌合型时，尤其是正常细胞与异常细胞比例相差悬殊的情况下，这种基因诊断方法受到局限，应进行染色体核型分析或荧光原位杂交或 SKY 的方法，以明确诊断。尽管嵌合型在先天愚型中只占 1%~2%，但文献报道在实践中遇到了这种情况即 PCR 结果显示正常而羊水培养证明为唐氏综合征嵌合型。只能对样品 DNA 的整体情况做出判断，如果标本中母血受到污染，会影响结果的判读。而且由于 PCR 扩增受到多种因素的影响：如模板 DNA 质量、循环周期、污染等，可能出现扩增失败或出现假阳性结果，故在实际应用中，要注意这些问题。

【参考文献】

[1] 陈振斌，雷箴，等. 用短串联重复序列诊断唐氏综合征 [J]，中华医学遗传学杂志，2004（2）：99-100.

[2] 潘力，孙静华，等. 76 例唐氏综合征染色体核型分析 [J]，中国优生与遗传杂志，2005，13（4）：44-45.

[3] 陈海艳，辛军平，等. DNA 分析法快速诊断 21 三体综合征 [J]，华西医科大学学报，2002（1）：125-128.

[4] 崔英霞，王咏梅，等. DNA 多态性诊断额外染色体和 46，XX/46，XY 嵌合体起源 [J]，医学研究生学报，2004（9）：775-778.

[5] 张莉. 正常人群 21 号染色体上 3 个基因座的多态性及在染色体数目识别中的应用 [J]，中国生育健康杂志，2003（2）：113-115.

[6] 李怡，郝冰涛，等. D21S1409 和 D21S11 基因座在唐氏综合征诊断中的应用 [J]，河南医学研究，2002（4）：301-304.

浅谈 DNA 技术如何协调加快提升现场勘查能力

金晓剑

（上海市公安局金山分局，200540）

“随着两种真实，人类通过感官认识到的真实与借助（为探索感官所不能及的世界而发明的）辅助性手段而揭示的真实之间的鸿沟不断增大，人类的感官活动对事实调查的重要性也在不断减弱。”达马斯卡这一论述预示着法庭科学证据在当前诉讼中的前景之广阔。

DNA 技术作为法庭证据的重要手段之一，给传统的司法活动造成了颠覆性的改革，潜移默化地改变了司法人员解决办案的手段与观念。其在刑事司法活动诉讼证明中发挥着至关重要的作用，尤其在提高侦查办案能力、防止冤假错案等方面彰显着其独特的证据魅力。党和国家因此也相当重视 DNA 技术在我国的发展。

近年来，我国的 DNA 技术飞速发展，几乎所有的省份都建立起了 DNA 实验室，都能进行 DNA 检验。同时，上海、北京、辽宁等地区都投入巨大的人力、财力和精力建立了本地区法庭科学 DNA 数据库，在案件的侦破上发挥了一定作用。“金盾工程”的实施，更是把各地公安机关数据紧密地联系在了一起，为配合刑侦部门追踪案犯，串并案件，提高破案效率提供了一种全新的科学方法。但是，DNA 技术的运用也具有其局限性，其必须紧紧依靠现场勘查。只有通过现场勘查提取物证才能进行接下来的 DNA 检验工作。而当前，在现场勘查方面存在犯罪现场被破坏，不重视对危害较小案件现场与未遂案件现场的勘查，技术人员对微量物证的提取、利用率低，现场勘查规范性不足等问题。这些问题严重制约着我们的侦查破案能力，限制着 DNA 技术的运用，通过 DNA 技术协调加快提

升现场勘查能力已迫在眉睫。

在美国有这么一个案例："关于美国橄榄球明星辛普森涉嫌杀害其前妻和其前妻男友一案，由于现场勘查没有做到精雕细琢，致使一些重要的证据没有予以提取。由于操作没有做到合法合规，即在证据的提取、保存、检验、鉴定的法律程序和科学规范上存在纰漏，致使现场勘查中收集到的强有力证据在法庭上失去效力，最后导致辛普森在涉嫌杀人案中以无罪豁免。"可想而知，现场勘查是多么的重要。尽管当前 DNA 技术已经取得了突破性的发展，技术已经相当成熟，然而其根本的主动权还是掌握在现场勘查人员的手中。如果犯罪现场没有得到正确的勘查。那么，现存的以及将来可能拥有的先进技术都不能发挥出其应有的价值。也就是说，无论当前 DNA 技术发展速度之快，水平之高，如失去现场勘查的有效支持，其作用大打折扣，为侦查破案所提供的作用微乎其微。

因此，DNA 协调加快提升现场勘查能力已成为 DNA 技术发展的重点。只有协调提升现场勘查质量和临场指导能力，才能更好地发挥出 DNA 技术的最大价值。这样才能最大限度地揭露案件真实、认定犯罪嫌疑人、避免出现冤假错案的发生，也才能最大限度地确保侦查程序正当合法。做好 DNA 技术协调加快提升现场勘查能力要从以下几方面做起：

确立现场保护新理念。通过对勘查人员进行培训学习，让勘查人员树立先现场保护的新理念，要严格防止犯罪现场被破坏，必须做到以下几个方面的要求：

民警到达现场第一时间进行现场保护，禁止任何人员入内，需等痕迹勘查人员进行勘查，开通道路才可进入。任何人员不得在犯罪现场内吸烟、吃东西。

进行现场勘查需佩戴橡胶手套，在接触、收集证据时，不要随意触碰自己的体表，不能打喷嚏、大声说话，最好佩戴口罩。

每种证据都必须单独收集和包装，以防止证据之间的污染。如果可能的话，仅用一次性的物品装盛、包装检材。对所有重复使用的容器、包装物，每次使用完必须彻底消毒。

勘查过程中，要慎重处理锋利物，如注射器、刀片、玻璃等锋利物，防止划伤，应特殊包装或严格包裹并做清楚标示。

对沾染有血液或者体液的衣服或物品，必须先经干燥处理再将其包装于双层袋中，并正确标示。

为方便物证的管理和安全，在提取、包装、运送、保管、鉴定、归档，必须环环衔接，签名备注。

贯彻落实中央领导"既要破大案，也要管小案"的指示精神，加强对危害较小案件现场和未遂案件现场勘查的重视。近年来，入室盗窃几乎成了基层技术员每天必备接触案件，其影响小，但发案率之高，破案率之低，已成为困扰广大老百姓的难题。实践证明，犯罪嫌疑人作案时，案件越大，从现场获得的财务越多，危害后果越严重，其防范意识越高，警惕性越强，事先会对犯案做充分的准备，毁坏痕迹也越彻底。相应地，我们勘查所获得有价值的线索也会越少。相反，犯罪嫌疑人在实施一些危害性较小的案件，往往会麻痹大意，不太会留意毁灭痕迹。从某种意义上来说，案件危害越小，犯罪嫌疑人警惕性越差，我们在现场能找到有价值的证据概率也越大。所以说，侦破系列性犯罪案件往往可以在小案上寻找突破口来破获全案。

提高对微量物证的提取率、利用率。勘查现场时，应注意从以下几点部位寻找微量物证：从被害人的衣服和体表（特别是指甲内）寻找。这主要适用于杀人、强奸等案件。从作案工具、包装物及其他遗留物上寻找附着的微量物证。从通往现场中心的路径、逗留部位、门窗等地寻找犯罪嫌疑人的遗留物、抛弃物以及衣服上的刮擦可能留下的剥离物。从犯罪嫌疑人破坏、翻动过的物体上寻找遗留物。

对于发现的微量物证，提取和包装要十分的注意。提取通常采用刮、粘、擦、刷、割以及提取其依附的载体等方法。在自然光或一般光照条件下不易提取的物证，可以借助放大镜或者特殊光源。提

取微量物证的原则是：既要充分的提取，又要防止沾染到客观载体上杂物，还要尽可能减少提取到工具上的其他物质成分，同时，还要尽可能减少对客观载体的破坏。对所提取到的物质，要进行妥善保存，快速送检进行鉴定。

严格遵守现场勘查的各项法律程序、科学标准、技术操作的规范性。刑事证据立法的完善对现场勘查的质量提出了挑战，我们警察及技术人员将面临当庭的质问，在以后，出庭作证将成为一种日常性的常态，这就给现场勘查、物证鉴定质量提出了更高的要求。在现场勘查过程中各项操作都必须符合法律规范，证据的提取、包装、运送、检验和保存必须严格合法合规。确保在现场勘查及后面的各项检验活动中做到实体真实、方法科学、程序合法的三位一体。

运用二代测序技术分析两例"off-ladder"等位基因

孙溢华[1]，陈　剑[1]，李永生[1]，周如华[2]

（1. 江苏省苏州市公安局吴中分局，215104；2. 江苏省苏州市公安局刑事警察支队，215131）

1　案例资料

1.1　样本来源

本研究样本为实验室 DNA 建库人员口腔拭子。

1.2　STR 基因座检测

使用打孔器在建库人员口腔拭子 FTA 卡（Whatman 公司，英国）上取直径为 1.2mm 的样品，使用 Identifiler Plus（Life technologies，美国）试剂盒和在 9700 型扩增仪上按照说明书操作进行直接扩增，扩增产物经 3500XL 遗传分析仪电泳，使用 GeneMapper ID-X 软件进行数据分析。

1.3　DNA 序列分析

Chelex-100 法提取建库人员口腔拭子 FTA 卡模板 DNA，抽取上层溶液 4℃保存备检。应用 Qubit ® dsDNA HS 分析试剂盒在 Qubit ® 3.0 荧光定量平台（Life technologies，美国）检测模板 DNA 浓度；应用 ForenSeq™ DNA Signature 样品扩增制备试剂盒（illumina 公司，美国）按照说明书操作进行测序前的 DNA 文库制备；应用 Miseq FGx Reagent 试剂盒（illumina 公司，美国）按照说明书操作在 Miseq FGx 测序仪（illumina 公司，美国）上进行测序反应，使用 ForenSeq Universal 软件分析测序数据。

2　结果与讨论

用 Identifiler Plus 试剂盒在一份建库人员口腔拭子 STR 分型图谱中 D21S11 基因座上检出等位基因 30 和一个"off-ladder"等位基因（见图 1）；在另一份建库人员口腔拭子 STR 分型图谱中 D5S818 基因座和 FGA 基因座之间检出一个"off-ladder"等位基因，上游的 D5S818 基因座检出等位基因 10/12，下游 FGA 基因座检出等位基因 20（见图 2）。软件分析显示，FGA 基因座上 30 等位基因的长度为 207.51bp，OL 等位基因为 210.59bp；D21S11 基因座上 20 等位基因的长度为 225.05bp，其上游区域的 OL 等位基因为 201.04bp。

二代测序分析软件显示，在 D21S11 基因座上 30 等位基因核心序列为 $[\mathrm{TCTA}]_4[\mathrm{TCTG}]_6[\mathrm{TCTA}]_3[\mathrm{TATC}]_4[\mathrm{ATCT}]_2\mathrm{ATCCATAT}[\mathrm{CTAT}]_{11}\mathrm{CTA}$；OL 等位基因核心序列为 $[\mathrm{TCTA}]_6$

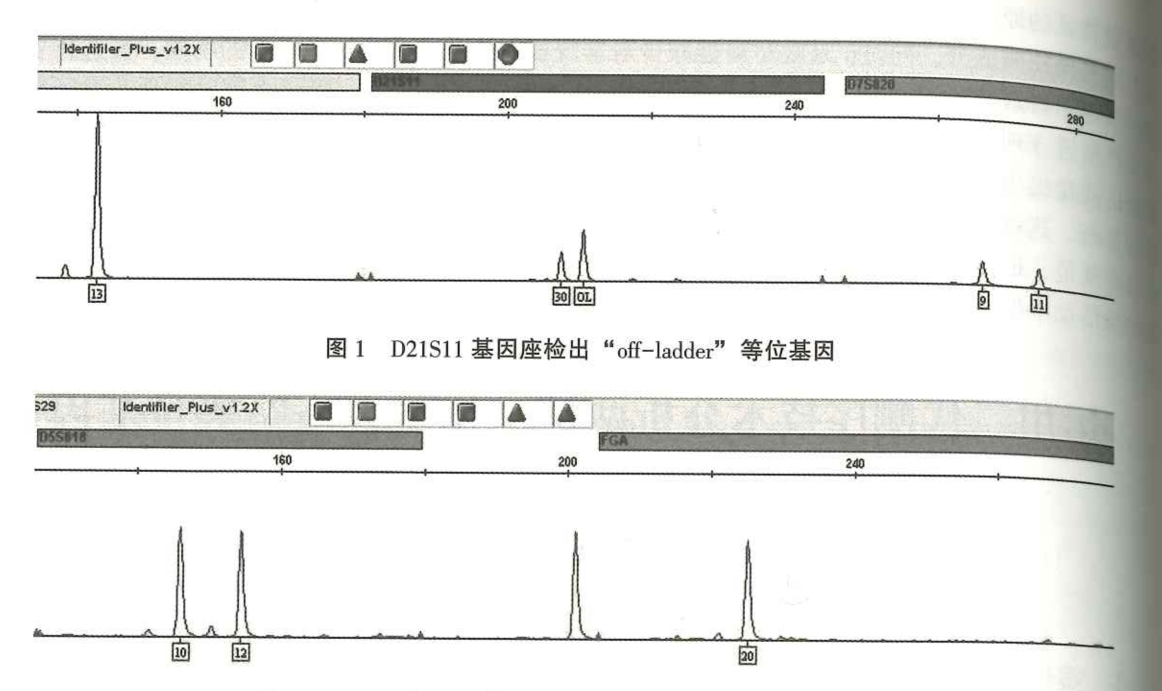


图 1 D21S11 基因座检出“off-ladder”等位基因

图 2 D5S818 与 FGA 基因座之间检出“off-ladder”等位基因

$[TCTG]_5$ $[TCTA]_3$ $[TATC]_4$ $[ATCT]_2$ATCCATAT $[CTAT]_5$CTA $[CTAT]_5$CTA，并将该 OL 等位基因识别为 D21S11 基因座上的等位基因 30.3（见图 3）。在 FGA 基因座上 20 等位基因核心序列为 $[TTTC]_3$TTTTTTCTC $[TTTC]_{12}$ $[TCCT]_2$TCC；上有区域的 OL 等位基因核心序列为 $[TTTC]_3$TTTTTTCTC $[TTTC]_6$ $[TCCT]_2$TCC，并将该 OL 等位基因识别为 FGA 基因座上的等位基因 14（见图 4）。

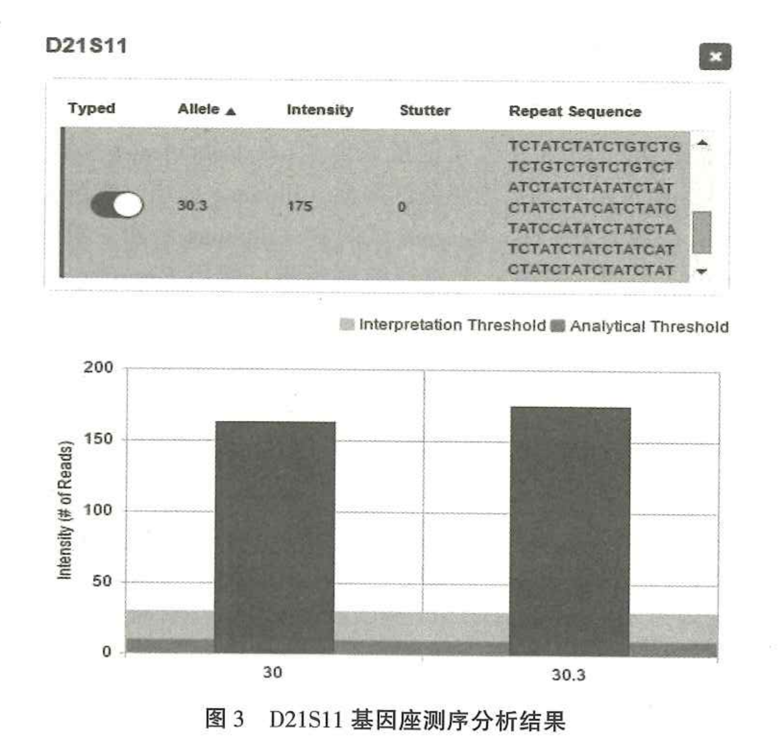


图 3 D21S11 基因座测序分析结果

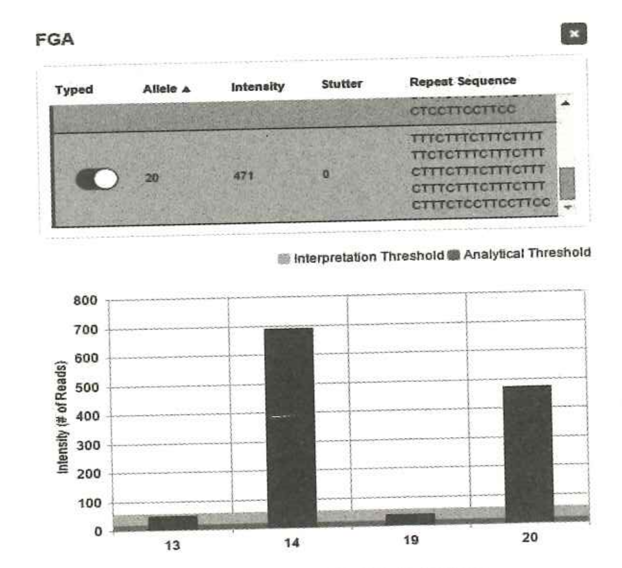


图 4 FGA 基因座测序分析结果

法庭科学 DNA 检验应用第二代遗传标记——短串联重复序列（Short Tandem Repeats，STR）进行个人识别与亲权鉴定，在荧光检测 STR 自动化分析中 Allelic Ladder 包含了绝大多数的 STR 等位基因，而出现在 Allelic Ladder 识别区域之外的就是 OL 等位基因，这一类 OL 等位基因通常分为两大类：一类是在 Ladder 之间，另一类则是位于 Ladder 范围之外的。本研究在两份样本中分别检出 OL 等位基因，其中 D21S11 基因座上 OL 等位基因属于第一类，FGA 与 D5S818 基因座之间的 OL 等位基因属于第二类。运用二代测序检验技术，读取出 OL 等位基因的核心序列，并将 D21S11 基因座的 OL 等位基因命名为 30.3，位于 D5S818 与 FGA 基因座之间的 OL 基因为 FGA 基因座，并命名为 14。STRbase 数据库中 D21S11 和 FGA 基因座并未收录本次新检出的两个 OL 等位基因，应为稀有等位基因。在进行 STR 检验中，若遇到 OL 等位基因，应引起足够重视，必要时需进行重复试验，为进一步确认研究形成机制还需进行测序检测，通过直接读取 OL 等位基因的核心序列，排除是否为非遗传因素导致的 OL 峰的出现，并且最为直观地确认是否为稀有等位基因。

【参考文献】

[1] 李成涛，郭宏，赵敏珍，等. 亲权鉴定中常用 STR 基因座的基因组学和遗传学分析［J］. 法医学杂志，2008，24（3）：214-220.

[2] Crouse C. A.，Rogers S.，Amitto E.，et al.. Analysis and interpretation of short tandem repeat microvariants and three-banded allele patterns using multiple allele detection systems［J］. J Forensic Sci，1999，44（1）：86-94.

D10S1435 基因座电泳伪峰问题探讨

黄洪武[1]，郭卓明[2]，王 霖[2]

（1. 江苏省昆山市公安局，215300；2. 江苏省无锡市公安局，214001）

1 材料与方法

1.1 样本

本实验所用检材为日常积累的血样。

1.2 主要仪器和试剂

AGCU 21+1 STR 荧光检测试剂盒（无锡中德美联生物技术有限公司）；9700 扩增仪（ABI）；3500XL 遗传分析仪（ABI）。

1.3 方法

1.3.1 DNA 提取

采用高效硅珠 DNA 提取纯化试剂盒（无锡中德美联生物技术有限公司）。取两片血样（1.2mm）至离心套管中，加入裂解 DTL 液 120μL，金属浴 95℃ 900rpm 消化 10min，离心弃上套管；加入 360μL 的吸附液 DL 和 20μL 硅珠，900rpm 振荡吸附 20min，高速离心弃尽液体后用 DW 漂洗液 500μL 漂洗三次；弃尽漂洗液后 56℃ 烘干 2min，加入 20μL 洗脱 DTE 液 56℃ 900rpm 振荡洗脱 15min，离心取上清备用。

1.3.2 扩增检测

采用 AGCU 21+1 STR 荧光检测试剂盒（无锡中德美联生物技术有限公司）。DNA 模板量取 1.0μL，扩增体系（25μL）及扩增程序均按照说明书进行操作。

1.3.3 DNA 序列分析

使用 Bio XM 2.6 软件，分析 D10S1435 序列的 A/T/G/C 四碱基含量、GC 含量以及变化趋势。使用 RNA structure v5.2 软件，分析 D10S1435 DNA 单链二级结构。

1.3.4 甲酰胺变性效能减弱模拟实验

通过向甲酰胺中加入不同浓度的 $MgCl_2$ 溶液，模拟降低甲酰胺的变性效能，具体方法为：在每个跑样孔中加入 12.5μL 含 SIZ-500 的甲酰胺+1μLPCR 产物+1μL $MgCl_2$（Mg^{2+} 终浓度为 500mM、250mM、100mM、50mM 和 10mM），然后进行毛细管电泳检测（3500XL）。

1.3.5 热变性处理

将扩增产物于 95℃ 加热 5min 后立即冰水浴处理 3min，然后进行毛细管电泳检测。

2 结果

2.1 GC 含量

D10S1435 序列中，A/T/G/C 四碱基的含量见表 1。扩增子长度为 268bp，GC 含量为 46.64%，AT 含量为 53.63%。D10S1435 序列中，GC 含量变化趋势见图 1，序列 3′端 GC 值较高，表明存在较强的氢键作用。

D10S1435 扩增序列碱基组成表

碱基组成	A	G	C	T	G+C	A+T	total
长度	47bp	58bp	67bp	96bp	125bp	143bp	268bp
百分比	17.54%	21.64%	25%	35.82%	46.64%	53.36%	100%

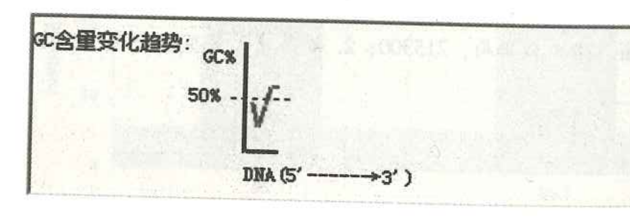


图 1 D10S1435 基因座 GC 含量变化趋势

2.2 二级结构预测

D10S1435 序列二级结构预测见图 2。D10S1435 序列的 3′末端存在多个可能的二级结构，其中有 7 个碱基和 8 个碱基形成的二级结构。

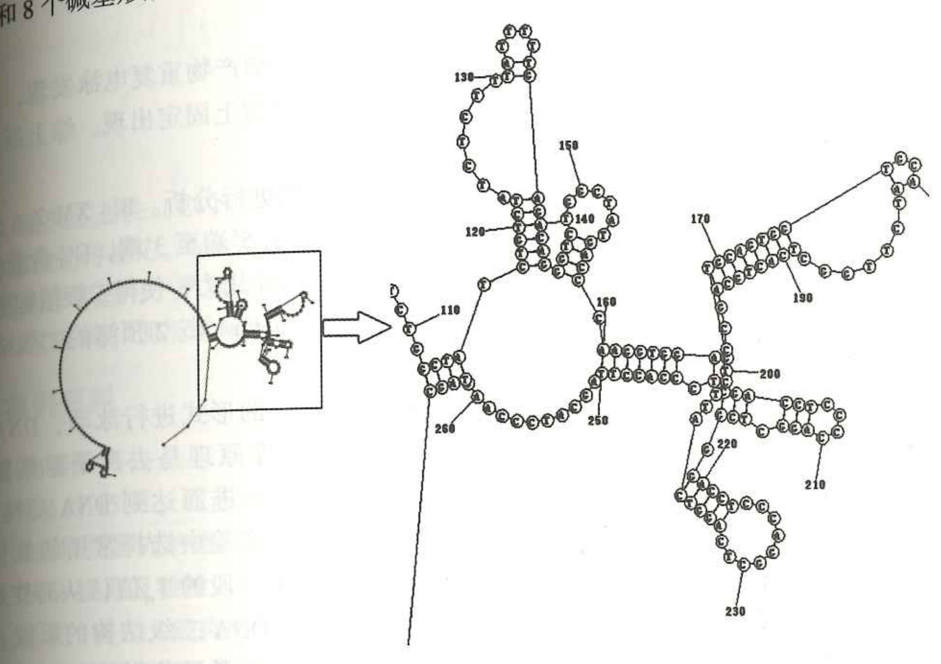


图 2 D10S1435 序列的二级结构预测

2.3 甲酰胺变性效能减弱模拟结果

当加入 $MgCl_2$ 的终浓度为 10mM、50mM、100mM 时，D10S1435 基因座均出现了电泳伪峰的现象。而在变性的条件下，即使加入 50mM 的 $MgCl_2$ 也不会影响 D10S1435 基因座的分型。

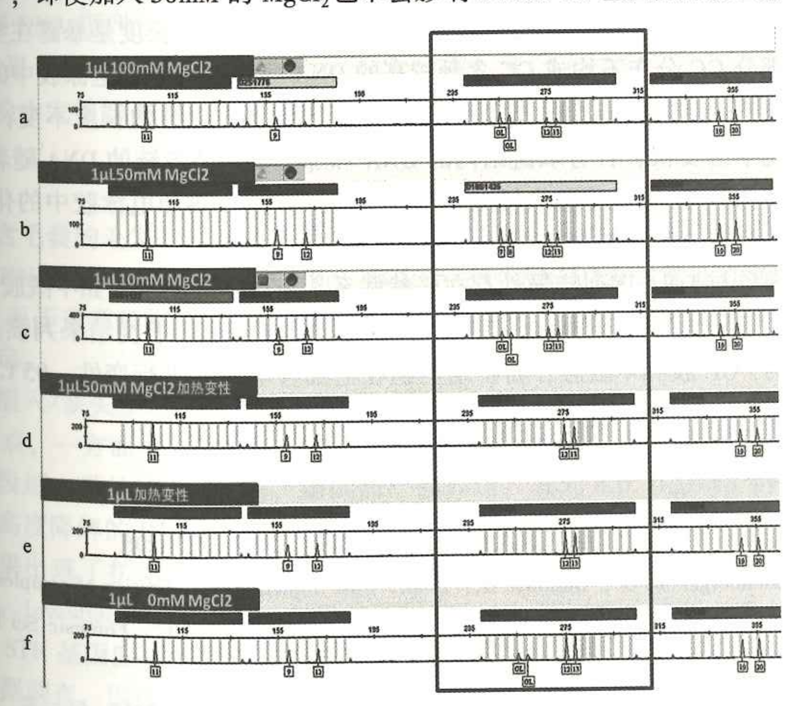


图 3 D10S1435 随 $MgCl_2$ 浓度梯度变化及加热变性电泳图谱

a，b，c 组分别为加入终浓度为 100mM，50mM，10mM 的 $MgCl_2$，未加热变性；d 组为加入终浓度为 50mM$MgCl_2$，加热变性；e 组为未加入 $MgCl_2$，加热变性；f 组为未加入 $MgCl_2$，未加热变性。

3 讨论

D10S1435 扩增样本电泳时出现 4 个产物峰，通过同一样本的扩增产物重复电泳发现，比主峰片段约小 20bp 的位置出现的峰，由于电泳条件的差异，不会在电泳图谱上固定出现。综上所述，比主峰片段约小 20bp 的峰是 DNA 二级结构造成的伪峰。

分析图谱发现，D10S1435 易出现电泳伪峰，对 D10S1435 序列进行分析。Bio XM 2.6 分析结果显示，D10S1435 序列的 GC 含量比例适中，但 GC 碱基分布不均。从 5′端至 3′端，GC 含量呈现递增趋势，易导致二级结构形成，且 GC 间氢键作用力较强于 AT 间氢键作用力，使得二级结构更加稳定，需要苛刻的变性条件才能使 DNA 双链分离成单链。此外，RNA structure v5.2 预测的二级结构表明，3′端的高 GC 含量易形成多种复杂的发夹结构。

实验中模拟变性条件减弱的环境。毛细管电泳中 DNA 以单链的形式进行泳动，DNA 双链变成单链需要经过变性，通常所用的变性剂为去离子甲酰胺。变性原理是去离子甲酰胺通过和 DNA 之间形成氢键作用，使维持 DNA 双螺旋稳定性的氢键断裂，进而达到 DNA 变性的目的。因此模拟变性条件变弱的环境只需要将盐离子添加至甲酰胺中。实验中选择常用的氯化镁盐溶液。盐离子的加入降低了甲酰胺的变性效能，另外也提高了 DNA 片段的 T_m 值，从而使解链需要更高的温度或更苛刻的变性条件。综上所述，盐离子增加有利于 DNA 二级结构的形成。随着加入的 $MgCl_2$ 浓度不断降低时，伪峰与目的峰的比例也随之下降，且伪峰高值和 $MgCl_2$ 浓度呈正相关。

针对二级结构形成的时间，作出如下探讨。DNA 在甲酰胺中变性成单链，毛细管电泳时，DNA 从负极向正极迁移，从进样端开始泳动，然后进入恒温炉室。60℃恒温环境和电泳胶中的高浓度化学变性剂共同维持 DNA 的单链状态。所以，DNA 双链结构的形成时段可能是在 DNA 进入恒温炉室之前。因为毛细管进样端和恒温炉室之间有一段距离，即毛细管有部分长度是暴露在空气中而非恒温炉室中，这个区段内部分 GC 分布不均或 GC 含量较高的 DNA 序列在仅依靠电泳胶中的化学变性剂不能很好地维持其单链结构，易重新退火形成双链结构。由于形成双链结构长度不变，但电荷总量提高了，电泳迁移速度比单链要快，含有双链结构的 DNA 和那些仍保持单链的 DNA 随着电泳迁移速率不同而被分开。双链结构的 DNA 迁移进入恒温炉室后，60℃持续加热和电泳胶中的化学变性剂协同作用，使双链结构重新解离，再次恢复到单链状态。

虽然电泳伪峰现象与 DNA 序列特异性存在必然联系，但潜在的原因，如甲酰胺去离子化不彻底、POP 胶过期等也会引起 DNA 变性不完全，从而导致电泳伪峰出现，干扰结果判读。针对以上原因，建议选择保质期内的 POP 胶和甲酰胺；将扩增产物在毛细管电泳前进行变性：95℃温浴 5min，然后立即冰浴 3min。

【参考文献】

[1] 郑秀芬. 法医 DNA 分型 [M]. 北京：中国人民公安大学出版社，2002：203-206.

[2] Mclaren R. S., Ensenberger M. G., Budowle B., et al.. Post-injection hybridization of complementary DNA strands on capillary electrophoresis platforms：a novel solution for dsDNA artifacts. [J]. Forensic Sci Int Genet，2008，2（4）：257-273.

[3] Johnm M. Butler. 法医 DNA 分型：STR 遗传标记的生物学、方法学及遗传学 [M]. 侯一平，刘雅诚主译. 北京：科学出版社，2007：261.

毛干 DNA 检验一例

徐建平，蓝　焘，李宏扬

（江苏省南通市海安县公安局，226600）

插入/缺失多态性（以下简称 Indels 或 DIPs）是指基因组中插入或缺失不同大小的 DNA 片段所形成的多态性遗传标记。Indels 遗传标记在人类基因组中含量丰富，片段短小，扩增子长度为 75bp～160bp，因此非常适用于严重降解检材。本文利用 Investigator® DIPplex 试剂盒（QIAGEN 公司）成功提取毛干 DNA1 例。现报道如下：

1 案例资料

1.1 简要案情

2017 年 4 月 15 日，江苏海安县城郊结合部发生一起交通肇事案件，在肇事车辆后视镜上提取毛发 1 根，并提取受害人的血液样本，要求进行 DNA 检验。

1.2 DNA 提取及检验

DNA 提取　首先，经肉眼观察，送检的毛发不含毛囊，将毛干样品用 1%SDS 洗液中浸泡洗涤 30s 后，将毛发转到市售巴斯消毒液中漂洗；其次使用纯水洗毛发 2 次，用干净滤纸擦拭毛发表面；最后，将毛发剪成 0.5cm～1.0cm 的长度放入装有 400μL 的无水乙醇的 1.5ml 离心套管中，浸泡 10min 后吸取乙醇，65℃烘干备用。按 GA/T 383—2014 中硅珠法提取 DNA。

DNA 扩增及检验　上述提取到的 DNA 模板使用 Investigator Ⓡ DIPplex 试剂盒进行扩增，扩增体系 25μL。反应条件：94℃4min；94℃30s，61℃120s，72℃75s，共 30 个循环；68℃60min。扩增产物应用 ABI-3500 型 DNA 序列分析仪电泳分离和 GeneMapperID-X 软件分析。

1.3 检验结果

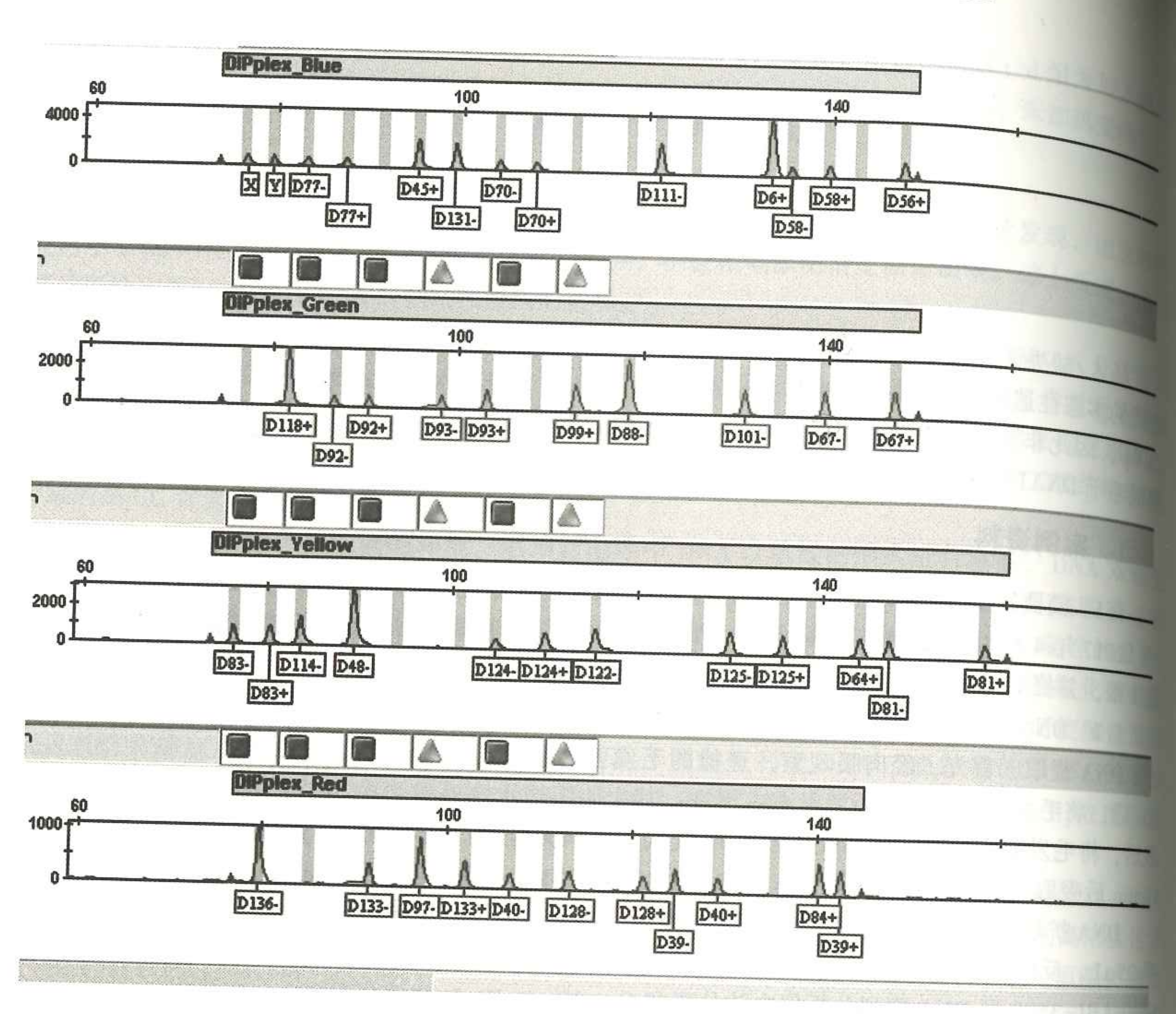
送检的毛干检出完整的 DNA 分型图谱（见图 1），与受害人的血液样本 DNA 分型图谱一致。

2 讨论

毛干，即不含毛囊的毛发，是刑事现场勘查中易收集的一种无创、运输和储存方便的生物检材。虽然有关毛干的 DNA 提取的报道已屡见不鲜，但由于毛干中 NuDNA 含量低且降解严重，因而目前法医 DNA 检验中，毛干通常只能进行线粒体测序。但由于线粒体 DNA 系母系遗传，个体识别率低，且不能进行同一认定。

本文使用的插入/缺失多态性位点是基于 STR 和 SNP 的人类身份鉴定之外的一种鉴定方法，兼具 STR 和 SNP 的优点，一方面可以采用与 STR 分型一致的技术流程，操作简单，个体识别率高；另一方面其扩增子片段短，最长约为 160bp，据试剂厂商介绍，其对≤0.1ngDNA 仍可获得可靠的结果，因而尤其适用于高度降解的 DNA。

本例检验结果出现了扩增不均衡现象，分析可能与毛干 NuDNA 含量少、黑色素抑制有关。同时，本文还提示：Investigator Ⓡ DIPplex 试剂盒选用的 Indels 基因座分散在人类 19 条染色体上，与目前大规模使用的 STR 基因座完全不同，且国内还没有建立相应基因座及其数据结构的国家标准，缺乏大规模群体数据调查，因而尚且不能作为鉴定证据使用，但可以作为常规 STR 检验的补充，提供有效的侦查线索。



毛干的 DNA 分型图谱

【参考文献】

[1] John M. Butler. 法医 DNA 分型专论：方法学（第三版）[M]. 侯一平，刘雅诚主译. 北京：科学出版社，2013：303-304.

[2] 王林生，苏勇，顾林岗. 硅珠法提取 PCR 模板 DNA [J]. 中国法医学杂志，2000，15（1）：36-37.

10μL 与 25μL 扩增体系对比和案件应用

何得元，陈洋洋，徐忠华

（江苏省如皋市公安局物证鉴定室，265000）

目前我国多数公安机关 DNA 实验室对现场生物检材 DNA 模板使用美国 AB 公司 Idtifiler Plus 扩增试剂盒 10μL 体系进行扩增，部分实验室使用试剂盒供应商推荐的 25μL 体系。本文对不同浓度的 9947A 阳性对照分别使用两种扩增体系的检测结果进行对比，并讨论在实际检案中的两种体系结合应用。

1 材料与方法

1.1 样本准备

美国 AB 公司 Idtifiler Plus 扩增试剂盒中 Master Mix 与 Primer Set 按照 2∶1 比例混合，配置 2150μL。9947A 阳性对照（0.1ng/μL）用去离子水分别稀释成 1/2（50pg/μL）、1/4（25pg/μL）、1/8（12.5pg/μL）、1/16（6.25pg/μL）、1/32（3.125pg/μL）、1/64（1.5625pg/μL）浓度，各配置 150μL。

1.2 PCR 扩增

10μL 体系：6μL（Master Mix+Primer Set 混合液）+4μL 样本。

25μL 体系：15μL（Master Mix+Primer Set 混合液）+10μL 样本。

热循环参数：95℃11min→（94℃20sec→59℃2min）×28 循环→60℃10min→4℃保温。

上述不同浓度样本分别按 10μL 与 25μL 体系平行扩增 10 次。

1.3 结果检测

PCR 扩增产物使用 ABI3130XL 测序仪进行检测，结果使用 GeneMapper ID-X 软件进行分析。

2 结果

相同扩增体系下，每种浓度 10 次平行扩增的包括性别染色体 STR 基因座在内的共 160 个基因座检测结果：

表 1　10μL 体系检测结果

样本浓度	图谱峰高区间	160 个 STR 基因座等位基因检出情况			
		完整且均衡	完整不均衡	非特异性扩增	丢失
50pg/μL	650~3750	155	5	0	0
25pg/μL	283~1830	144	16	0	0
12.5pg/μL	140~1330	110	50	0	0
6.25pg/μL	50~736	93	58	2	7
3.125pg/μL	25~560	80	40	5	35
1.5625pg/μL	20~285	62	20	5	73

表 2　25μL 体系检测结果

样本浓度	图谱峰值区间	160 个 STR 基因座等位基因检出情况			
		完整且均衡	完整不均衡	非特异性扩增	丢失
50pg/μL	1200~4000	160	0	0	0
25pg/μL	400~1900	153	7	0	0
12.5pg/μL	200~1100	141	19	0	0
6.25pg/μL	50~530	130	30	0	0
3.125pg/μL	20~290	117	38	0	5
1.5625pg/μL	20~170	115	16	0	29

3 讨论

本文以 9947A 阳性对照制备样本，不考虑扩增抑制物的影响。从表 1、表 2 中可以看出，相同样本浓度下，10μL 体系较 25μL 体系的峰值区间范围跨度稍大，等位基因不均衡数量多，样本在 6.25pg/μL 浓度下开始出现非特异性扩增和等位基因丢失的情况，而 25μL 体系在实验各浓度中未出现非特异性扩增情况，在 3.125pg/μL 浓度下才出现等位基因缺失，但是数量明显比 10μL 体系少，说明 25μL 体系较 10μL 体系在 6.25pg/μL 浓度以下稳定性更好。但从峰高值对比来看，25μL 体系因样本相对浓度不高于 10μL 体系，所以并不能增加扩增产物提高图谱峰高。

等位基因缺失与非特异性扩增的出现对图谱的分析和结果的判定有显著影响，根据上述比较来看，25μL 体系比 10μL 体系扩增更为稳定，对结果的判定更为可靠。

曾有文献报道要慎重选择小体系扩增，但是目前 10μL 体系 PCR 技术已经很成熟，25μL 体系作为试剂盒供应商推荐反应体系特点也很明显。作者认为在实际检案中选择扩增体系上不能死板，要根据检材情况、DNA 提取情况具体分析判断，建议考虑结合应用扩增体系，从而获得性价比最高的结果。在 10μL 体系扩增产物浓度较低，STR 基因座基因型具备一定分析条件，模板量足够的情况下可以考虑选择使用 25μL 体系进行第二次扩增，在一定程度上可以减少非特异性扩增影响、补全缺失的等位基因。笔者所在单位实验室已有多起案例通过扩增体系结合运用，比中犯罪嫌疑人，或作为认定的证据。

4 案例应用

2015 年 1 月 9 日，本市如城街道海阳路如家宾馆顶楼机房内发现被盗接地铜板一块，涉案价值 1500 元，现场提取可疑印痕擦拭棉签一份。采用硅珠法提取 DNA，先行 10μL 体系扩增，对 STR 分型结果（见图 1）进行拆分比对，分析为犯罪嫌疑人刘某，但多个 STR 基因座出现非特异性扩增、等位基因缺失等情况，后经 25μL 体系扩增，STR 分型结果（见图 2）中消除了 10μL 体系中出现的非特性扩增，补全了缺失的等位基因，最终认定犯罪嫌疑人。

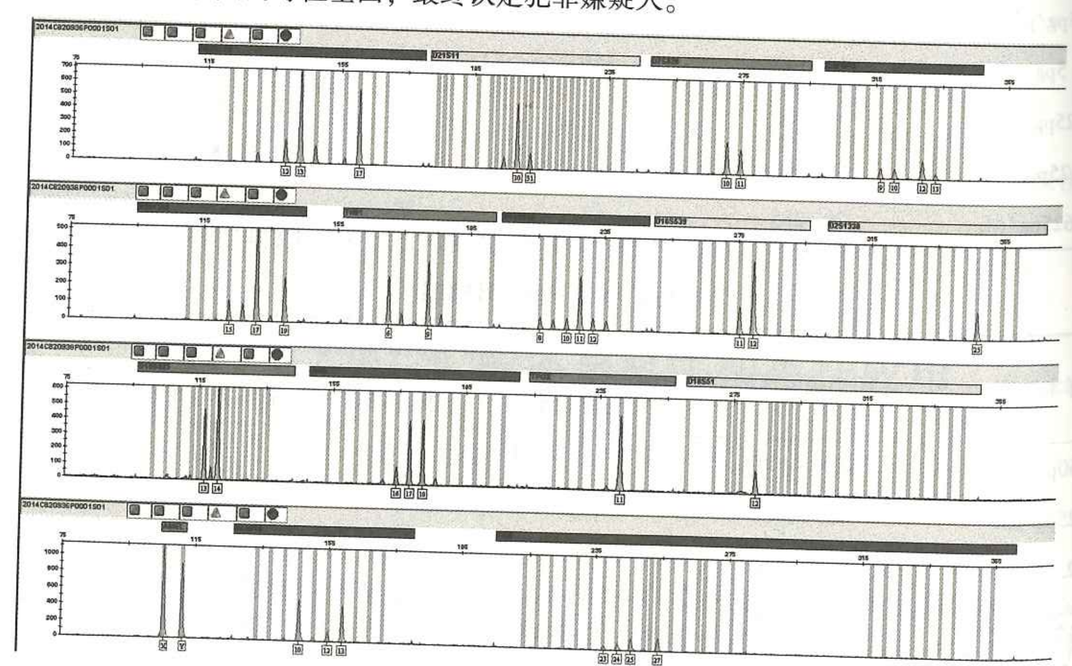


图 1 可疑印痕擦拭棉签 10μL 体系扩增 STR 分型图谱

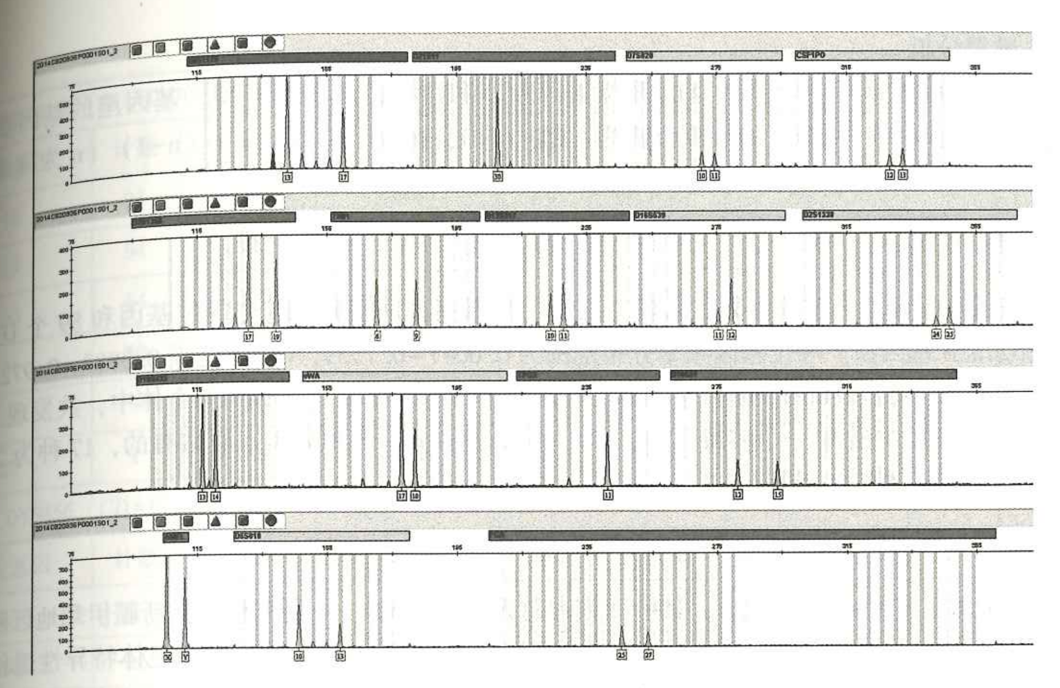


图 2 可疑印痕擦拭棉签 25μL 体系扩增 STR 分型图谱

【参考文献】

[1] 周怀谷，平原. PCR 扩增体系的体积减少对 DNA 分析的影响 [J]. 法医学杂志，2002，18（3）：155-159.

[2] 王林生，苏勇，顾林岗. 硅珠法提取 PCR 模板 DNA [J]. 中国法医学杂志，2000，15（1）：36-37.

新疆伊犁地区回族群体 22 个 Y-STR 基因座的多态性分析

徐忠华，何得元，陈洋洋

（江苏省如皋市公安局物证鉴定室，226500）

男性特有的 Y 染色体呈父系遗传，若无突变发生，同一父系的男性个体均具有相同的 Y-STR 单倍型，因此使 Y-STR 被广泛用于父系亲缘关系鉴定、性犯罪混合斑等法医学实践中。本研究采用五色荧光素标记复核扩增检测体系，通过对 22 个 Y-STR 基因座（DYS19、DYS388、DYS389I、DYS389II、DYS390、DYS391、DYS385a/b、DYS392、DYS393、DYS437、DYS438、DYS458、Y_GATA_H4、DYS439、DYS444、DYS448、DYS456、DYS522、DYS635、DYS527a/b）进行检测，调查新疆伊犁地区回族 213 名男性无关个体的遗传多态性，以探究其在群体遗传学及鉴定实践中的应用价值。

1 材料方法

1.1 样本采集

213 名新疆伊犁地区回族健康成年男性无关个体血样。

1.2 检验方法

采用直扩法，AGCUY24STR 荧光检测试剂盒进行复核扩增，PCR 循环参数采用试剂盒推荐方法。

1.3 数据分析

使用直接计数法计算各个基因座的等位基因频率和总体的单倍型频率。基因座的基因多样性（GD）和单倍型多样性（HD）的计算公式为：GD（HD）$= n \times (1-\sum x^2) / (n-1)$（n 为样本的个数，x 为样本的等位基因频率或单倍型频率）。

2 结果

22 个基因座的等位基因频率分布见表 1。22 个基因座共观察到 114 个等位基因和 89 个 DYS385a/b、DYS527a/b 基因型。等位基因频率分布范围为 0.0047~0.7559，GD 值范围 0.3883~0.9724，其中 DYS385a/b、DYS527a/b 两个基因座的 GD 值在 0.9 以上。在调查的 213 例个体中，共发现了 203 中单倍型，其中 182 种是单一个体特有的，1 种为 4 人所共有，3 种为 3 人所共有的，17 种为 2 人所共有的。经计算 HD 值为 0.9982。

3 讨论

新疆伊犁地区有 47 个民族成分，其中回族占总人口的 8.3%，本研究检测的新疆伊犁地区回族男性无关个体 22 个 Y-STR，除 DYS391 外，其余基因座 GD 值均>0.5。对于 Y 染色体特异性遗传标记而言，检测包含多个位点的 HD 值的实用价值要高于检测各基因座上的 GD 值，在 Y-STR 中 HD 效值既相当于其个体识别率（PD），也相当于非父排除率（PE），本研究中，新疆伊犁地区回族 213 例男性无关个体的 HD 值为 0.9982，表明在目标人群中，PD 及 PE 值同样高达 99.82%，可以认为该 22 个 Y-STR 基因座在新疆伊犁地区回族男性无关个体的鉴别中具有很高的应用价值。

新疆伊犁地区回族群体 22 个 Y-STR 基因座等位基因频率分布及基因多样性表（n=213）

DYS439（GD=0.7042）			DYS527a/b（GD=0.9459）			DYS385a/b（GD=0.9724）		
等位基因	计数	频率	单倍型	计数	频率	单倍型	计数	频率
10	42	0.1972	18/19	1	0.0047	11/11	9	0.0423
11	92	0.4319	18/20	4	0.0188	11/12	3	0.0141
12	54	0.2535	19/20	5	0.0235	12/12	6	0.0282
13	20	0.0939	20/20	2	0.0094	11/13	6	0.0282
14	5	0.0235	18/21	1	0.0047	12/13	9	0.0423
DYS444（GD=0.7501）			19/21	3	0.0141	13/13	6	0.0282
等位基因	计数	频率	20/21	10	0.0469	10/14	1	0.0047
10	9	0.0423	21/21	11	0.0516	11/14	13	0.0610
11	19	0.0892	18/22	4	0.0188	12/14	7	0.0329
12	70	0.3286	19/22	4	0.0188	13/14	7	0.0329
13	64	0.3005	20/22	4	0.0188	10/15	1	0.0047
14	45	0.2113	21/22	16	0.0751	11/15	2	0.0094
15	6	0.0282	22/22	11	0.0516	12/15	4	0.0188
DYS448（GD=0.6978）			18/23	1	0.0047	13/15	4	0.0188
等位基因	计数	频率	19/23	4	0.0188	14/15	1	0.0047
17	6	0.0282	20/23	22	0.1033	11/16	1	0.0047

续表

DYS439（GD=0.7042）			DYS527a/b（GD=0.9459）			DYS385a/b（GD=0.9724）		
等位基因	计数	频率	单倍型	计数	频率	单倍型	计数	频率
18	21	0.0986	21/23	22	0.1033	12/16	7	0.0329
19	94	0.4413	22/23	15	0.0704	13/16	5	0.0235
20	64	0.3005	23/23	23	0.1080	15/16	11	0.0516
21	20	0.0939	16/24	1	0.0047	16/16	2	0.0094
22	7	0.0329	20/24	8	0.0376	11/17	5	0.0235
23	1	0.0047	21/24	5	0.0235	12/17	13	0.0610
DYS456（GD=0.6268）			22/24	6	0.0282	13/17	4	0.0188
等位基因	计数	频率	23/24	4	0.0188	14/17	2	0.0094
13	3	0.0141	24/24	1	0.0047	15/17	2	0.0094
14	26	0.1221	18/25	2	0.0094	10/18	2	0.0094
15	119	0.5587	20/25	1	0.0047	11/18	3	0.0141
16	44	0.2066	21/25	6	0.0282	12/18	6	0.0282
17	16	0.0751	22/25	3	0.0141	13/18	10	0.0469
18	5	0.0235	23/25	1	0.0047	14/18	2	0.0094
DYS522（GD=0.7371）			24/25	3	0.0141	15/18	2	0.0094
等位基因	计数	频率	25/25	1	0.0047	9/19	1	0.0047
9	1	0.0047	18/26	2	0.0094	11/19	3	0.0141
10	48	0.2254	19/26	1	0.0047	12/19	3	0.0141
11	80	0.3756	23/26	1	0.0047	13/19	12	0.0563
12	49	0.2300	24/26	1	0.0047	14/19	5	0.0235
13	31	0.1455	21/27	1	0.0047	16/19	1	0.0047
14	4	0.0188	21/22/23	2	0.0094	11/20	1	0.0047
DYS635（GD=0.8157）			Y_GATA_H4（GD=0.6749）			12/20	4	0.0188
等位基因	计数	频率	等位基因	计数	频率	13/20	7	0.0329
18	5	0.0235	7	1	0.0047	14/20	3	0.0141
19	12	0.0563	9	1	0.0047	19/20	4	0.0188
20	36	0.1690	10	20	0.0939	20/20	1	0.0047
21	63	0.2958	11	85	0.3991	11/21	2	0.0094
22	41	0.1925	12	83	0.3897	12/21	1	0.0047
23	34	0.1596	13	19	0.0892	14/21	1	0.0047
24	15	0.0704	14	4	0.0188	15/21	2	0.0094

续表

DYS439（GD=0.7042）			DYS527a/b（GD=0.9459）			DYS385a/b（GD=0.9724）		
等位基因	计数	频率	单倍型	计数	频率	单倍型	计数	频率
25	6	0.0282	DYS392（GD=0.7723）			18/21	1	0.0047
26	1	0.0047	等位基因	计数	频率	13/22	2	0.0094
DYS19（GD=0.7308）			7	7	0.0329	15/22	2	0.0094
等位基因	计数	频率	9	1	0.0047	16/22	1	0.0047
13	19	0.0892	10	17	0.0798	DYS390（GD=0.7213）		
14	71	0.3333	11	78	0.3662	等位基因	计数	频率
15	72	0.3380	12	21	0.0986	19	2	0.0094
16	41	0.1925	13	30	0.1408	21	6	0.0282
17	10	0.0469	14	52	0.2441	22	16	0.0751
DYS388（GD=0.5124）			15	4	0.0188	23	86	0.4038
等位基因	计数	频率	16	3	0.0141	24	51	0.2394
10	17	0.0798	DYS393（GD=0.6543）			25	50	0.2347
11	2	0.0094	等位基因	计数	频率	26	2	0.0094
12	146	0.6854	11	1	0.0047	DYS391（GD=0.3883）		
13	18	0.0845	12	82	0.3850	等位基因	计数	频率
14	14	0.0657	13	87	0.4085	9	8	0.0376
15	8	0.0376	14	39	0.1831	10	161	0.7559
16	6	0.0282	15	3	0.0141	11	43	0.2019
17	2	0.0094	16	1	0.0047	12	1	0.0047
DYS389I（GD=0.6653）			DYS437（GD=0.5282）			DYS458（GD=0.8179）		
等位基因	计数	频率	等位基因	计数	频率	等位基因	计数	频率
12	75	0.3521	13	9	0.0423	14	3	0.0141
13	83	0.3897	14	130	0.6103	15	48	0.2254
14	53	0.2488	15	67	0.3146	16	34	0.1596
15	2	0.0094	16	7	0.0329	17	51	0.2394
DYS389II（GD=0.7885）			DYS438（GD=0.6148）			18	41	0.1925
等位基因	计数	频率	等位基因	计数	频率	18.2	3	0.0141
26	5	0.0235	9	22	0.1033	19	25	0.1174
27	12	0.0563	10	104	0.4883	20	7	0.0329
28	40	0.1878	11	79	0.3709	21	1	0.0047

续表

DYS439（GD=0.7042）			DYS527a/b（GD=0.9459）			DYS385a/b（GD=0.9724）		
等位基因	计数	频率	单倍型	计数	频率	单倍型	计数	频率
29	55	0.2582	12	8	0.0376			
30	64	0.3005						
31	29	0.1362						
32	4	0.0188						
33	4	0.0188						

【参考文献】

[1] Jobling M. A., Tyler-Smith C.. Fathers and sons: the Y chromosome and human evolution [J]. Trends Genet, 1995, 11 (11): 449-456.

生物物证网格化提取检验一例

吴天泉，路 陆

（江苏省海门市公安局，226100）

近年来，随着犯罪分子反侦查意识的增强，犯罪分子戴手套、口罩、帽子作案的比例在不断上升。大多数勘查人员认为，这种案件提取到生物物证几乎没有可能，因此，往往忽略了这类案件检材的提取。笔者通过对本地一起盗窃保险柜内财物案件的勘查提取，成功检出犯罪嫌疑人DNA分型，为侦查破案提供了重要线索，现报道如下。

1 案件资料

2017年1月15日16时至2017年2月14日16时30分，家住本市的廖某被人技术开锁入室，撬开卧室间内的保险柜，窃走价值九万余元的黄金首饰。

2 勘查分析提取过程

2.1 勘查分析

由于案件财物损失价值大，案发时间跨度较长，勘查提取生物物证难度比较大，遂领导要求DNA技术人员赶赴现场指导勘查提取工作。现场为套间结构，房间内翻动较大，地面有被打扫过的痕迹，被盗保险柜长方体形、体积大、重量重，被移动过，门呈打开状，有严重的工具撬压和打砸痕迹，在其中一面上发现手套印痕。综上分析认为，犯罪嫌疑人具备反侦察能力，在现场停留时间较长，尤其围绕保险柜进行了长时间的破坏动作。

2.2 现场DNA提取

考虑到犯罪嫌疑人可能戴手套、戴口罩，结合勘查分析遂决定在现场对保险柜进行网格化擦拭提取。将其每个面分区分块，并做标记，使用两根易折断棉签，通过湿、干两步擦拭法擦拭保险柜表面，将两个棉签头剪取放置于1.5mL离心管。

3 DNA检验

3.1 DNA提取方法

采用硅珠法提取DNA，试剂配置按照文献，具体操作步骤：向离心管中加入200μL TES，20μL 10%SLS（十二烷基肌氨酸钠），20μL10mg/mL蛋白酶K，混匀后至于恒温振荡器上，56℃ 600r/min振荡1h，再99℃ 600r/min振荡8min，13000r/min离心3min；将上清转移至另一离心管中，加入1mL吸附液，离心取上清再转移至另一离心管；加入20μL硅珠悬液，吸附15min，离心弃上清液；漂洗液洗涤1次，70%乙醇洗涤3次，离心弃上清，56℃挥干乙醇，加入20μL TC，振荡混匀后56℃ 600r/min振荡15min，离心取上清用于PCR反应。

3.2 复合扩增及分型检测

使用Identifiler Plus试剂盒（美国AB公司），采用10μL体系进行复合扩增，扩增产物应用3500XL遗传分析仪（美国AB公司）进行毛细管电泳，GeneMapper ID-X软件进行基因分型。

3.3 结果

这起案件在检材"保险柜右侧面擦拭物十四"中成功检出犯罪嫌疑人完整的DNA分型（见图1），录入全国公安机关DNA数据库应用系统中，直接比中犯罪嫌疑人邓某。

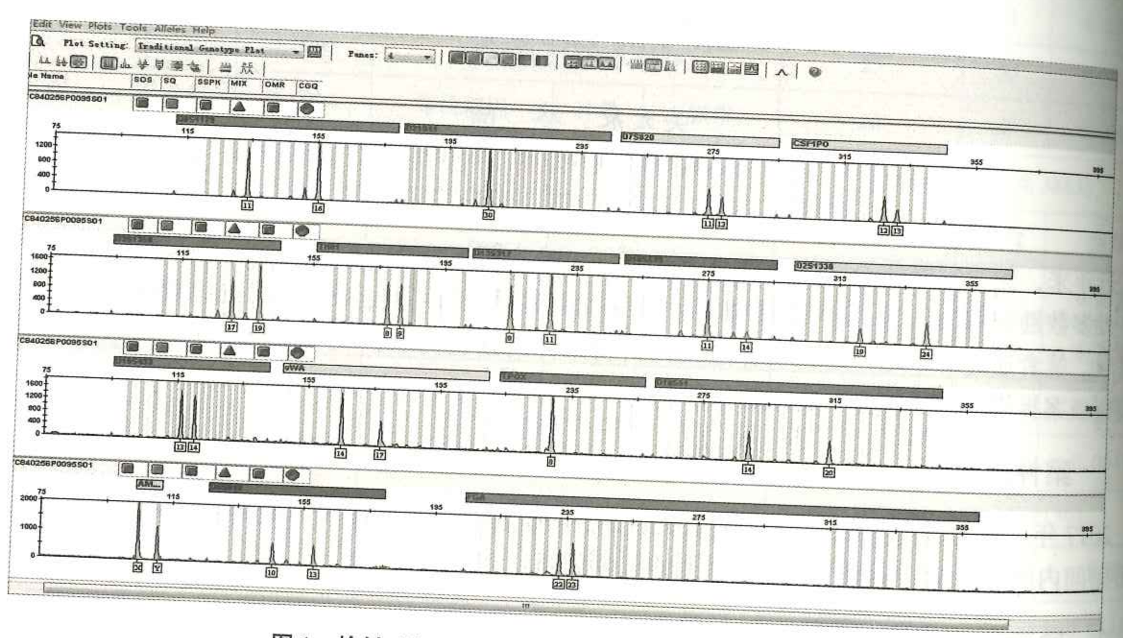


图1 检材"保险柜右侧面擦拭物十四"STR分型图谱

4 讨论

本案中，勘查分析犯罪嫌疑人有戴手套、打扫现场等反侦察行为，生物物证遗留更加困难，为防止微量物证的进一步灭失，且被盗保险柜体积大、重量重，原物提取有一定难度，因此决定在现场对其进行网格化擦拭提取。根据到案后犯罪嫌疑人邓某交代，他与同案另两名犯罪嫌疑人，穿戴口罩、帽子、头套实施盗窃，三人合力抬动保险柜，并且利用撬棒将保险柜门撬开，盗取财物后对现场进行清扫。

笔者通过这起案件中指导勘查人员对保险柜的网格化擦拭提取，成功检出了犯罪嫌疑人的基因分型，不仅增加了现场勘查人员对提取微量DNA的信心，也为现场勘查人员在物证提取方面提供了新的思路。

【参考文献】

[1] 郑秀芬. 法医DNA分析［M］. 北京：中国人民公安大学出版社，2002：43-44.

[2] 王林生，苏勇，顾林岗. 硅珠法提取PCR模板DNA［J］. 中国法医学杂志，2000，15（1）：36-37.

探讨如何提高现场生物物证的提取质量

刘 颖[1]，曹 刚[1]，何孝天[2]

（1. 江苏省连云港市公安局刑警支队，222000；2. 江苏省灌南县公安局刑警大队，222500）

随着DNA检验技术的进步，针对各类检材的DNA处理方法也得到长足发展，DNA应用范围越来越广泛，生物物证已从常规检材向微量、混合等疑难生物检材转变。现场生物物证的发现、提取和送检已成为现场勘验中最重要的环节，它是DNA检验成功比中的源头，只有提高现场生物物证采集水平，才能更好地提高DNA检出利用率，为案件破获提供更多信息。现从接警开始到生物检材到达实验室期间每一环节进行分析，并提出一些措施，以提高现场提取质量。

1 犯罪现场的保护

犯罪现场的保护提到有价值生物物证的前提。

口头告知：在实际工作中，首先接到案件或到达案件现场的多数为基层派出所民警，接警民警在电话中就应告知家主或报案人等不要接触或移动现场物品，保持犯罪现场原始状态；涉及抢劫、猥亵、强奸等与犯罪嫌疑人有身体接触的案件时，要告知受害人保护好接触部位，先不要擦洗。

设置好警戒线：接处警人员到达现场后根据案件具体情况封闭出入口，设置警戒线，禁止无关人员进入现场。处警民警不要徒手触摸或提取现场任何痕迹、物证。需要进入现场时，要戴上手套鞋套等，尽量靠现场的边缘行走，防止破坏现场痕迹、物证。

接处警人员培训：可定期对派出所接处警人员进行适当地培训，提高现场保护意识。实际工作中，经常是处警民警自身缺乏保护现场物证的意识，造成人为的生物检材破坏和污染，损失了许多有价值的生物物证。

2 生物物证的发现提取

现场勘验人员要树立正确的生物检材分析意识和较强的生物检材使用意识。

人员防护：现场生物检材很容易人为污染，尤其是微量接触性检材，所以进入现场人员要做好防护，应该穿戴好"三套一罩"（一次性手套、口罩、头套、鞋套）。但实际情况中，接处警民警或现场勘验人员往往戴上已多次使用过的纱线手套，直接进入现场，他们的头发、汗液、唾沫等极易留在现场，造成生物检材的污染。

提取方法：提取生物物证常用的方法为干湿两步法提取法，湿、干棉签联用的所谓"双棉签技术"是一种最常见的采集细胞的最佳方法。先用消毒的蒸馏水浸湿棉签，轻刷痕迹表面使细胞水化，使其从附着表面松散。随后用干棉签从附着表面采集额外的细胞。普遍认为再水化的细胞更容易黏附在干棉签上，由于两支棉签采集的是相同样本，通常将它们联合起来放入一物证袋中使细胞的采集量最大化。这里可以用喷壶将一棉签雾化湿润，不用带有太多水分，干擦时可以将检材表面水化的细胞全部擦取到，水分太多容易干擦不完全造成浪费。

在工作中，由于棉签容易携带，现场勘验人员在提取时生物检材时往往只用棉签擦拭法，而没有根据现场的实际情况，综合分析，运用剪、刮、粘等多种方法提取生物检材。

在勘验过程中，指纹显现时用的磁粉和刷子等工具反复使用也会对生物检材造成污染，所以在使用上述工具时要注意防止污染，而且生物物证提取前必须拍照固定，物证袋上要标明检材名称。

对于容易携带的生物检材建议原物提取，常见的有：

犯罪嫌疑人留下的作案工具，如作案时用的刀具、扳手、螺丝刀等。可将其根据大小选择合适的物证袋包装。如果刀刃部有受害人血迹等，应该将刀刃、刀柄部分别用物证袋固定住，防止交叉污染。

犯罪嫌疑人咬过的水果，长时间放置会发生腐败，造成 DNA 的降解，应放入透气的包装物中尽快送检，送检时要告知检验人员所送检材情况。

犯罪嫌疑人没喝完的饮料瓶，应从瓶子底部将瓶中液体倒掉，不从瓶口倒出是防止液体将唾液细胞带走，有的饮料不及时倒掉也会霉变；也可以将瓶口剪下直接送检，瓶身继续处理指纹等。

犯罪嫌疑人留下的毛发，提取时要用干净的镊子提取，并保护好毛囊，可以用干净的滤纸将毛发包住放入物证袋中。

3 生物物证的保存送检

在当前工作中，DNA 检材类型大多为脱落细胞的棉签擦拭。一般干湿擦拭后的棉签要阴干后放入纸质物证袋中，罗卡定律指出“凡两个物体接触，必会产生转移现象”，因此在此过程中，生物物证会转移到物证袋。发生 DNA 转移造成潜在的 DNA 丢失，并最终将会对分型结果产生影响。所以使用悬空包装盒或者带干燥剂的棉签包装进行保存，这样既容易干燥，降低 DNA 的降解，又可以避免棉签接触物证袋，造成 DNA 的浪费。

对容易降解的物证必须进行适当的处理保存，如潮湿的衣物、毛巾等，要阴干后尽快送检，不可潮湿状况下直接装入物证袋，容易霉变。现场物证都要独立包装，不可以将多个物证置于同一包装袋中，而且检材名称要逐一标明清楚。

4 结语

在生物检材送到实验室之前解决好这些问题，可以为实验室的检验工作提供好的保障。现在微量接触性生物物证的提取已经成为常态，DNA 检验技术人员思想也要发生转变，不仅要做好实验，还要指导侦查人员和基层技术人员怎样提好生物物证，要根据案件的实际情况指导他们哪些生物物证应该提取，怎样提取效果更好，这样才能最大程度提高生物检材的提取质量，提高生物检材的 DNA 检出率和利用率，更快更好地为侦查破案服务。

【参考文献】

［1］Johnm M. Butler. 法医 DNA 分型专论：方法学（第三版）［M］. 侯一平，李成涛等，译. 北京：科学出版社，2013：4-5.

［2］董会，王晶，秦翠娇，等. 物证袋保存生物检材产生 DNA 转移问题研究［J］. 刑事技术，2016，41（3）：173-177.

毒品包装塑封袋上人体脱落细胞 DNA 检验

王元鑫[1]，李雨芯[1]，孙　波[1]，曹　锋[2]

（1. 江苏省连云港市赣榆区公安局刑警大队，222100；2. 江苏省连云港市公安局刑警支队，222003）

1 案例资料

1.1 简要案情

2014 年 7 月 14 日，抓获涉嫌贩卖毒品的犯罪嫌疑人 8 人，并当场缴获疑似冰毒物质约 6.7 千克及六四式手枪一把、子弹 6 发。因犯罪嫌疑人拒不交代，不承认其贩毒事实，且未在毒品包装塑封袋上提取到可用的指纹，故要求对毒品包装塑封袋进行人体脱落细胞 DNA 检验及与犯罪嫌疑人进行同一认定。

1.2 毒品包装塑封袋 DNA 提取及检验

DNA 提取取两根细轴棉签，其中一根用生理盐水浸湿（半干），另一根干燥，采用干、湿两步擦拭法擦拭毒品包装袋封口，放入 0.6mL 离心管中，各加入 TES 100μL、10%SLS 10μL 及 10mg/mL 蛋白酶 K 20μL；漩涡振荡 15s，37℃消化 15min 后 99℃消化 10min；加入 300μL 的吸附液（实验室配制硫氰酸胍溶液），12000r/min 离心 2min，将上清液移至干净的 0.6mL 离心管中。每管加入 20μL 硅珠悬液，室温静置 7min，涡旋震荡 15s 后再静置 8min，12000r/min 离心 2min，弃上清。在沉淀物中加入 70%的冷乙醇溶液 400μL，充分悬浮后 12000r/min 离心 2min，弃上清；重复上述洗涤过程 1 次后放入 56℃烘干。加入 10μL 去离子水，充分溶解沉淀物，56℃保温 15min，12000r/min 离心 2min，取上清液备用。

DNA 扩增及检测设置 1μL、4μL 两种模板用量，使用 Identifiler Plus 试剂盒（AB 公司）在 9700 扩增仪（AB 公司）上进行扩增，反应体系为 10μL。反应条件：95℃ 11min；94℃ 20s。59℃ 3min，共 28 个循环；60℃ 20min。扩增产物经 ABI 3500XL 型遗传分析仪（AB 公司）检测，Data Collection 软件收集数据，Gene Mapper ID-X 软件进行分析。

1.3 犯罪嫌疑人血痕样本 DNA 提取及检验

DNA 提取犯罪嫌疑人血痕样本，载体为 FTA 卡，使用打孔笔取 1.2mm 血样放入 0.2ml 扩增管中。

DNA 扩增及检测使用 Identifiler Plus 试剂盒（AB 公司）进行直接扩增，PCR 反应在 9700 扩增仪（AB 公司）上进行扩增，反应体系为 10μL。反应条件：95℃ 11min；94℃ 20s。59℃ 3min，共 28 个循环；60℃ 20min。扩增产物经 ABI 3500XL 型遗传分析仪（AB 公司）检测，Data Collection 软件收集数据，Gene Mapper ID-X 软件进行分析。

1.4 检验结果

在毒品包装塑封袋上检出完整的 STR 分型（见图 1），与犯罪嫌疑人 STR 分型（见图 2）一致。

2 讨论

本案中犯罪嫌疑人拒不交代犯罪事实，且在毒品包装塑封袋上未提取到有效的指纹等传统痕迹。因此，从毒品包装塑封袋上获得的犯罪嫌疑人 DNA 信息成为案件侦破的突破口。通过后期对犯罪嫌疑人的讯问得知，平时犯罪嫌疑人接触毒品，封装毒品时都佩戴一次性的 PE 手套，PE 手套为一种塑料手套，人体手部脱落细胞不可能透过 PE 手套遗留在载体上，所以笔者认为，嫌疑人遗留在塑封袋上的生物物证并非渗透到 PE 手套外面的手部脱落细胞，而是犯罪嫌疑人在戴手套的情况下擦汗、

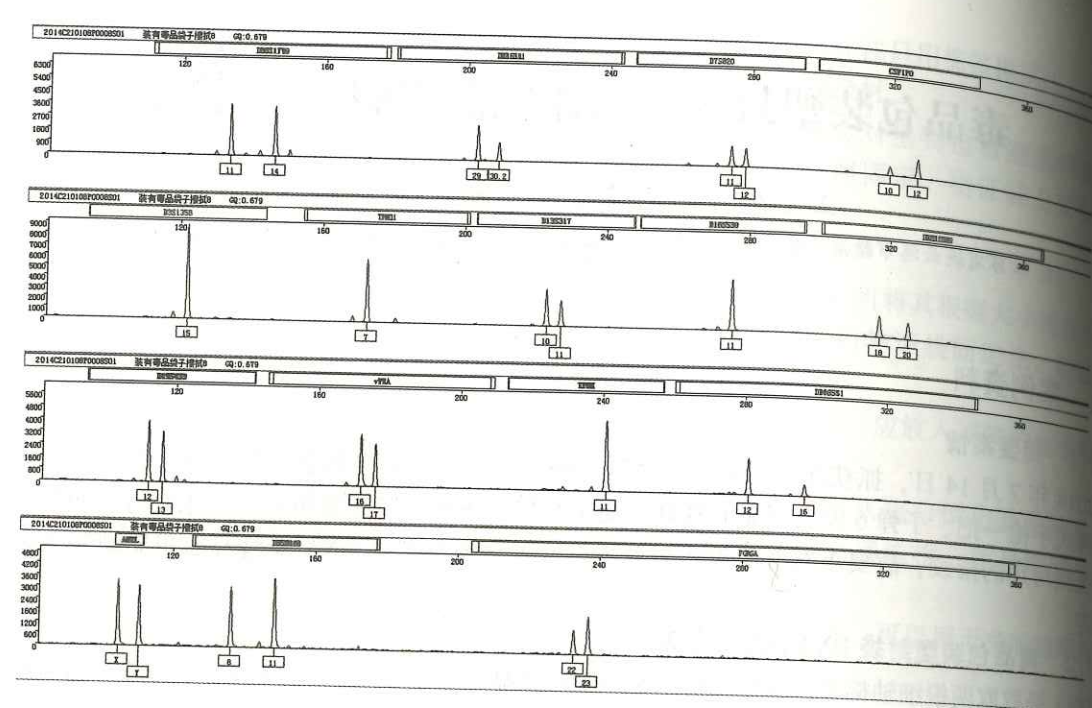


图 1　毒品包装塑封袋擦拭物的 STR 分型图谱

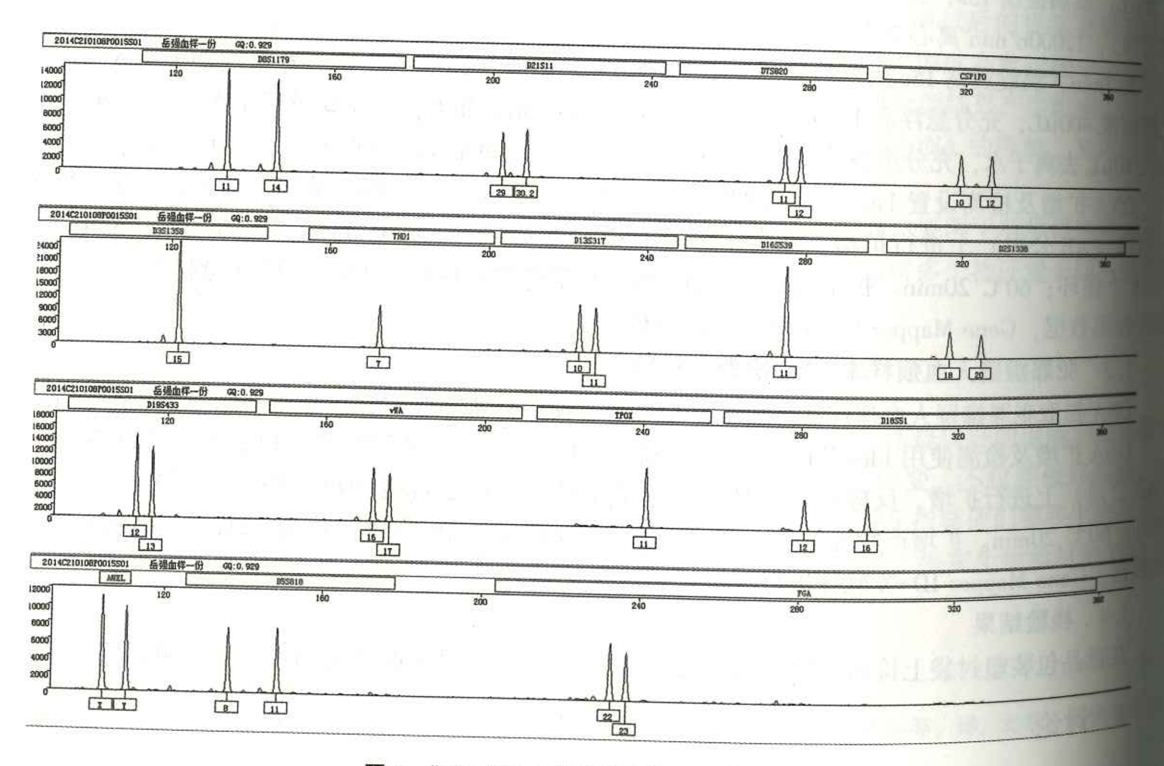


图 2　犯罪嫌疑人血痕样本的 STR 分型图谱

擦鼻涕，用嘴吹的方法戴手套、用嘴咬的方法脱手套、或者裸手接触手套外面导致人体汗液、唾液、脱落细胞遗留在手套表面上，后封装毒品时将此类细胞转移到载体上的。

本案检材属于接触 DNA，因此，获取纯度和浓度高的 DNA 模板是检验成功的关键。本文检验的体会为：1 提取检材时，应尽量使用棉签前端三分之一的部位擦拭，且擦拭区域尽量集中，擦拭后的

棉签头部全部放入离心管中，避免 DNA 的损失。2 在硅珠吸附时，必须加入足量的硫氰酸胍溶液，促进 DNA 与二氧化硅特异性结合。3 因为检材微量且浓度不易确认，在扩增时最好设置模板梯度，以便获得更好的分型结果，同时有利于分型结果之间的相互印证。

本案中，毒品塑封袋上的 DNA 成功检出，不仅使案件得以成功侦破，更增加了检验人员对接触 DNA 检出的信心，为现场勘查人员在物证提取方面提供了思路。但是过于强调接触 DNA 的重要性往往会导致检验资源的不合理利用，更容易忽视常规生物物证的发现和提取，因此，对各种类型的 DNA 检材树立全面、理性、科学的认识也是十分必要的。

【参考文献】

[1] 王林生，苏勇，顾林岗. 硅珠法提取 PCR 模板 DNA［J］. 中国法医学杂志，2000，15（1）：36.

[2] 郑秀芬. 法医 DNA 分析［M］. 北京：中国人民公安大学出版社，2002：27-28.

DNA 数据信息的深度挖掘和应用

高瑞祥，孙耀东

（江苏省盐城市公安局刑警支队，224002）

DNA 数据库是综合 DNA 检验、计算机网络和数据库管理等多项技术建立起来的数据存储和综合比对系统。联网的 DNA 实验室借助公安网络实现数据共享，通过认定罪犯、串并案件和查证身源，提升了 DNA 技术在打击犯罪中的快速反应能力。实践工作中，DNA 分型数据的优化调整、数据信息的深度挖掘、大量比中信息如何转化和应用，一直是业内共同努力的方向。盐城市公安局 DNA 实验室 2004 年投入实战，经过十几年发展，现已形成以市局实验室为中心，8 个县级 DNA 实验室为分支的一体化运行格局，管理上依托 lims 管理系统，加强对各类检验数据分类管理，定期主动查询比对，及时梳理比对信息，反馈办案单位并服务实战。

1　加强未知数据的主动比对，不留管理死角

实际工作中，网络传输故障出现数据漏报迟报、人为因素导致数据分类不当、历史数据清理不完全等原因，导致少数分型数据未能入库。我市根据部厅加强数据管理的系列要求，主动加强数据库安全防范和日常管理：一是建立“容灾备份”。为保证数据安全，我市与海鑫公司签订协议，启动 24h 故障响应机制，安装了容灾备份系统，数据库分别安装在两套服务器中，分别存放在本实验室和市局的数据中心，每一条数据实行两套系统同步存储，并由海鑫公司定期维护，最大限度保证了数据安全。二是建立“专门委托”。实验室对本地检验的 DNA 数据第一时间上传入库，对接收的外地协查数据集中建立专门委托，定期比对。将本地未破案件中单一分型的现场检材数据统一导入专门委托中，每周在部、省、本地数据库中人工主动检索比对，确认有效比中后将数据及时删除。三是加强历史数据管理。2004 年以前，全国 DNA 实验室不足百家，管理 DNA 分型数据基本依靠各自开发的单机版软件，不同实验室的数据彼此独立。2015 年年底，江苏省厅要求立案单位以案件找数据，DNA 实验室凭数据对案件，两头发力交叉验证，杜绝数据管理盲区。

典型案例：1999 年 11 月 28 日，盐城市阜宁县三灶乡王集村村民卢某被人强奸杀害。当时通过省厅 DNA 实验室检验，在死者阴道擦拭上检出精斑及 9 个 STR 基因座的分型数据。因为当时侦查部

门已形成明确的“嫌疑对象”张某并上网追逃，现场精斑 DNA 数据一直未得到专案指挥部的重视。2014 年，“嫌疑对象”张某被抓获，经检验与精斑 DNA 不符。同年底省厅对历年命案积案展开专项行动，省厅 DNA 实验室根据重新整理的历年来未破杀人案件进行重新梳理，将所有未破的命案数据交还给案发地公安机关 DNA 实验室，要求省市两级实验室进行双重比对。我们实验室得到该案的嫌疑 DNA 分型后，将分型数据导入专门委托，定期主动检索，2016 年 4 月 6 日比中新建库人员徐某（男，1957 年 11 月 25 日生，阜宁县三灶镇庄杨村四组）。2016 年 4 月 9 日，犯罪嫌疑人徐某在上海被抓获，并很快供述了强奸杀人的犯罪事实。

2 强化亲权比对的主动应用，提升服务能力

利用 DNA 数据库开展网上比对，相对来说进行个体识别的“同型比对”简便直接。开展亲权关系检索需要考虑的因素较多，比对得到的无关信息量较大，目前业内普遍认为，增加 STR 基因座数量、增加直系亲属样本数并组合应用，有助于去除无关信息，提高得到正确比中信息的概率。但实际工作中普遍存在“重视同型比中，轻视亲缘关系比中；重视三联体比中，轻视单亲比中”的认识，影响了数据库综合应用效能的发挥。部物证鉴定中心在现有的“同型比对”系统自动响应的基础上，先后开发了“快速直查系统”和“专家协查系统”，为基层提供亲权比对的后台服务，既保证了系统运行效率，又满足了办案单位的实战需求。

典型案例：1995 年 4 月 16 日和 18 日，在盐城市建湖县上冈镇境内一河面上先后发现两具男性尸体，现场勘查认定系他杀。案发后不久即确定本地人袁某有重大作案嫌疑，袁某于当年被公安部列为 A 级督捕逃犯。2009 年“清网行动”中，盐城市局 DNA 实验室将袁某母亲、妻子、女儿的 DNA 血样检验入库。后定期提交部物证鉴定中心开展后台比对。2014 年 12 月 7 日，DNA 国家库反馈袁某母、妻、女样本亲缘关系比中 2014 年 3 月 19 日因涉嫌无证驾驶机动车被福建警方处理的江西人何某。鉴于本次比中模式为“三联体+单亲”，技术层面意义较大，实验室认为何某很可能是袁某漂白身份后冒用的新身份，遂上报建议开展重点核查。2014 年 12 月 15 日，专案民警在福建省福州市将已漂白身份的袁某抓获。据了解，该起案例为国家库通过后台开展亲缘比对服务后的首例“精准”比中。

3 调整混合分型的检验参数，挖掘潜在价值

随着 DNA 技术实战作用不断提升，充分勘查现场，竭力收集生物物证已成为现勘人员的共识，于是生物检材数量越来越多，品种越来越杂，检验得到混合 STR 分型的概率也越来越大，如何挖掘混合分型的潜在价值自然也就成为了检验人员必须直面的问题。目前，国家库暂不支持混合分型的主动比对，如欲入库检索必须提交单一分型。对混合分型结果通常的做法是：①借助 GM ID-X 辅以人工确认；②调整模板量和扩增循环数，放大或削弱优势片段的扩增效率；③平行扩增，取结果稳定的分型数据；④完全凭借技术人员主观经验。

典型案例：2015 年 11 月 19 日晚，射阳县盘湾镇振阳村二组孙万涛在自家商店内被人入室抢劫。三名蒙面男子入室后首先用店内的跳绳将受害人捆绑控制，后又戴上商店内的一次性手套，将店内摄像头毁坏后实施作案。根据案情，检验人员重点对捆绑受害人的跳绳分段重点检验（捆绑用的跳绳为犯罪嫌疑人就地取材，徒手操作），成功在打结处得到了一个受害人占主要成分的混合分型，峰高正常。技术人员遂将模板量从 1μL 增加到 4μL，用 3 管平行扩增，并将扩增循环数从 28 改为 26，最终得到的混合分型的“主次片段”的比例悬殊程度得到较大缓解，在剔除受害人的分型后，拆分出疑似犯罪嫌疑人 STR 分型（13 个基因座），入库检索后成功比中前科人员戴某（男，1991 年 6 月 24 日生，江苏省射阳县兴桥镇人，自 2007 年以来多次被公安机关处理）。通过对戴某和跳绳历次检测结

果进行人工确认分析，从等位基因均衡度等角度确认跳绳上包含有戴某的分型。12 月 20 日，戴某等三名犯罪嫌疑人被抓获，案件顺利告破。

DNA 实验室与现场勘查工作互相促进提升的探讨

沈高芳，吴应锋，张健球

（江苏省扬州市公安局刑警支队，225009）

1 县级 DNA 实验室建成后破案成效显著

2012 年江苏省厅决定在全省县级公安机关推广 DNA 检验技术，扬州市局立即进行部署，严格按照《公安机关 DNA 实验室等级评定办法》和《法庭科学 DNA 实验室建设规范》的要求，稳步推进县级公安机关 DNA 实验室建设，2016 年 7 月前，宝应、高邮、江都、仪征四地先后建成 DNA 实验室并投入使用。2016 年全市重点人员建库数、现场检材入库数、受理案件数同比分别上升了 105%、75%、82%，13 类案件生物检材提取率同比上升 49.6 个百分点，直接比中犯罪嫌疑人 1081 名，案件 1231 起，串并案件 292 串 946 起，在侦查破案中发挥了重要作用。

2 DNA 实验室与现场勘查能力互相促进的工作机制

县级 DNA 实验室的管理和现场勘查系统都实现了网上共享，对于发案数量较少的地级市来说统一管理、定期通报更有利于形成争先进位的良好氛围。为了统一管理，扬州制定了《扬州市公安机关 DNA 工作规定》，从人员培训、设备维护、样品流转、检验办法和环境控制等方面规范现场勘查和实验室工作，形成县级 DNA 实验室、现场勘查和市局 DNA 实验室条块结合的 333 工作机制。

2.1 市局 DNA 实验室对县级 DNA 实验室的业务指导

2.1.1 规范培训 DNA 检验人员的工作机制

三个必学。新人必学，按照省厅要求，县级 DNA 室检验人员到市局跟班作业 3 个月以上，经理论知识和业务操作技能考核合格后上岗。轮训学习，专职从事 DNA 检验的人员，每 2 年到市局轮训 1 个月，与市局互相学习，交流检验经验，提高市县有效检出率。有错必学，市局根据监管中发现的问题及时组织人员讨论学习或上门指导，纠正工作中苗头性的隐患。有新必学，市县检验人员外出学习后，都要向其他检验人员讲解学习内容，让所有人共同掌握国际国内最新检验方法和理论的发展方向。

2.1.2 挂钩负责县级 DNA 实验室的工作机制

为了确保县级 DNA 实验室规范运行，市局依托全省“DNA 实验室信息管理系统（以下简称 lims 系统）”，指定经验丰富的检验人员分别负责一个县级 DNA 实验室，对实验室的检验情况进行网上实时监管，指导疑难复杂案件的检验，促进鉴定卷宗的完善，必要时上门现场查看，确保鉴定的准确性和规范性。市局每月对全市所有 DNA 检验人员当月受理的“十三类案件数、有效检出数、比中案件数”进行统计分析并在一定范围内公开，对连续倒数的检验人和挂钩人给予提醒，对检验结果异常的人员由市局负责人核查，分析原因。

2.1.3 集中审核比中信息的工作机制

各实验室按照《扬州市公安机关 DNA 工作规定》开展受理案件、检验鉴定和数据上报等工作。各地检验完毕后在 Lims 系统中形成的比中结果由市局专人统一审核数据的有效性与作用情况，比中

或串并的案件和人员信息每日发布在支队主页上，自 2012 年以来每年发布 200 多期，快速方便的给基层办案民警提供了比中线索。

2.2　市局 DNA 实验室和现场勘查工作间的督导促进

2.2.1　教学相长开放式学习的工作机制

市局改变单一讲解理论的培训模式，采用理论+实验演示教学模式，教学中随机抽取各地技术人员上台操作，现场点评，加深参训人员的印象；同时，请现场勘查提取率和检出率都高的技术人员介绍勘查经验及提取方法，并现场示范。2016 年，市局组织举办技术民警业务培训、生物检材提取新方法介绍等业务培训 300 余人次。

2.2.2　换岗换位交流互补的工作机制

遵守勘鉴分离的前提下，市局 DNA 室人员参与大要案件的现场勘查，现场操作生物检材的发现、提取对勘查人员起到示范指导作用，同时，DNA 检验人员参与现场分析后，对犯罪分子进出口和可能接触的部位有了感性认识，提取转移 DNA 时更有针对性。另外，重大案件发生后，现勘人员到实验室辅助检验人员受理检材、样本编号、拍照固定和物证包装等工作，提高现勘人员对物证的保护意识和规范流转意识。

2.2.3　系统数据交叉比对的工作机制

市局要求现场提取的物证 48 内小时内送检和录入现场勘验系统。支队每月以勘验系统中的 13 类案件为底数，在 DNA 管理系统中比对，两个系统案情和物证需一致，防止提取检材只送检 DNA 不录入勘验系统，防止只追求勘验系统中的提取率而弄虚作假或不及时送检，防止现场勘查人员滥提滥送，徒劳增加检验人员的工作量。市局分月统计分析全市技术人员 13 类案件的“勘查数、生物物证提取率、有效检出率、DNA 比中破案数”，对勘验现场多，提取率高，有效检出率高和比中破案率高的技术员给予点名通报表扬；反之，则不点名而提醒所在的单位引起重视。

2.3　县级 DNA 实验室与现场勘查工作的紧密提升

2.3.1　每周例会点评的工作机制

技术室、县级 DNA 实验室和现场勘查是一机两翼的关系，技术室每周定时召开例会，重点是通报现场勘查质量和实验室检验结果。DNA 室负责人对每个勘查人员的有效检出率进行反馈，对未检出有效 DNA 的案件进行分析，提出建议，对常处于后位者就逐案分析，由此形成倒逼机制，提高现场勘查质量。

2.3.2　专项讨论未提取到物证案件的工作机制

现场是破案的重要源头，为提高 DNA 破案效能，技术人员树立有手段、有活动的案件，生物物证提取率“百分百”的理念。技术员现场勘查时配备执法记录仪或录像机，对现场勘查工作全程录音录像。对于未提取到物证的案件首先实行零发现报告制度，其次在周例会上专项讨论未提取到物证的案件，将现场录像回放，由 DNA 室和其他技术员共同讨论可能留有犯罪嫌疑人 DNA 的部位，以便进一步提高现场勘查质量。

2.3.3　待遇保障与考评激励并举的工作机制

市局出台《扬州市公安局侦破大要案件奖励办法》，实行“一案三奖”制度，通过现场勘查技术比中破案和串并破案的，对痕迹提取、样本采集和技术比中的人员均予以奖励，将现场勘查、DNA 检验人员和比对人员的奖励关联起来，有利于三方面人员齐心协力，争取多破案。2016 年，全市为技术人员共计发放破案奖金 60 余万元。

3　制约县级 DNA 实验室发展的因素

3.1　重应用轻培养

虽然县级 DNA 实验室人员初期配备 3 人，但专职检验人员只有 2 人或 1 人，另 1 人从事管理或

现场法医工作，导致专职检验人员保障不到位。另外，基层工作中，领导交办任务繁杂，也分散了 DNA 检验人员的精力，造成人少工作量大，长期处于疲于应付状态，外出培训机会亦少，主要依靠市局的指导和培训，不利于专业的长足发展。

3.2　重检验轻管理

市县 DNA 检验人员常忙于大量微量检材的检验，对后期的数据资料归档、档案卷宗的完善，设备耗材台账的管理都或多或少存在不足。特别是县级 DNA 实验室与现场勘查人员同属于一个部门，碍于人情，检材流转和鉴定归档等环节难以做到规范化。

3.3　重简易轻研究

目前，脱落细胞类检材占生物检材的主要部分。县级实验室常关注部分检验结果较好的数据，及时入库比对，而对疑难复杂检材没有进行 2 次以上检验，特别是一些稳定性和可重复性较差的数据，没有深入研究，内心也怕出错，错过利于破案的线索信息。

浅谈复杂亲缘鉴定的研究进展

马　看，全　承

（江苏省仪征市公安局刑警大队，211400）

DNA 检验技术的发展在亲缘鉴定中正发挥着越来越重要的作用，户口申报、婴儿抱错案、拐卖妇女儿童案、移民案案件数量居高不下，是 DNA 实验室工作的重点与难点之一。然而对于复杂亲缘关系鉴定，如双亲全无人员全同胞亲缘关系的鉴定在科学原理上依然存在困惑。公安机关 DNA 鉴定检材主要源自于受害人员血液，常染色体 STR 分型容易获得，难点在于如何应用复杂亲缘关系鉴定及同卵双生甄别的理论基础并形成行业标准。

1　复杂亲缘关系鉴定的重点

亲缘关系鉴定是依据遗传学的基本原理，采用现代化的 DNA 分型检测技术来综合评判争议个体之间是否存在亲生、隔代或其他血缘关系。复杂亲缘关系鉴定即除常规亲子鉴定以外的评判争议个体之间是否存在隔代、全同胞或半同胞等复杂血缘关系。

1.1　双亲皆无全同胞亲缘关系鉴定

对于双亲皆无全同胞鉴定，在科学原理上的困惑主要有三种。第一种是两个个体在同一基因座上共享两个等位基因；第二种是两个个体在同一基因座上共享一个等位基因；第三种是两个个体在同一基因座上不共享等位基因。状态一致性评分技术指标新理论很好地解决了双亲皆无全同胞鉴定的这一难题。《生物学全同胞关系鉴定实施规范》（SF/Z JD010500-2014）等研制颁布使全同胞鉴定更加规范化。状态一致性（IBS）评分两名个体在同一基因座上可出现相同的等位基因，这些等位基因的一致性即称为状态一致性。该等位基因也称为状态一致性等位基因。

全同胞关系鉴定主要依据常染色体 STR 基因座分型结果，通过计算两名被鉴定人间的累计状态一致性评分（IBS），结合 IBS 在无关个体对人群中的概率分布规律，对被鉴定人之间是否存在生物学全同胞关系做出判断。依据孟德尔遗传规律可知，即使是真正的全同胞，在同一个基因座上也可以出现基因型完全不同（在该基因座上的状态一致性评分为 0）的情形；另外，即使是真正的无关个体，也可以因为偶然的因素在同一基因座上出现基因型完全相同（在该基因座上的状态一致性评分为 2）的情形，其发生概率与等位基因的人群频率分布有关。依据常染色体 STR 基因座分型结果进行

生物学全同胞关系鉴定时，鉴定意见分为“倾向于认为两名被鉴定人为全同胞”、“倾向于认为两名被鉴定人为无关个体”和“在当前检测系统下，无法给出倾向性意见”3 种。

1.2 半同胞亲缘关系鉴定

半同胞指由同父异母或同母异父所生的子女，分为同父异母和同母异父两种主要的情形。同父异母的半同胞鉴定鉴定，通过多个子女及他们的母亲的基因型分析，就可以推导出完整的生父基因型，进而与被检认亲孩子基因分型进行比对，发现 3 个以上确定的矛盾基因分型，则排除亲子关系，继而排除半同胞亲缘关系的可能性；若未发现矛盾基因分型，则表示存在亲子关系的可能性，此时可计算这种可能性的大小并进行评估。同母异父的半同胞鉴定通过常染色体 STR 分型检测和线粒体 STR 分型检测，可计算半同胞可能性大小。然而相对于技术成熟的常染色体 STR 分型检测，Y-STR 和 X-STR 及 mtDNA 还存在相当大的局限性。因而，在半同胞亲缘鉴定中，鉴定结论多为是否排除半同胞及无法确定的鉴定结论。

1.3 祖孙关系鉴定

祖孙关系鉴定是通过对人类遗传标记的检测，根据遗传规律分析，对有争议的祖父母与被捡孩子之间是否存在生物学祖孙关系进行鉴定。常见在生母、祖父母同时参与下被捡孩子与祖父祖母间的祖孙关系鉴定中，当被检孩子为男性时，可考虑对争议祖父与孩子补充检测 Y-STR 基因座；当被检孩子为女性时，可考虑对争议祖母与孩子补充检测 X-STR 基因座。同时，鉴定意见是依据 DNA 分型结果，对被捡孩子与祖父祖母间的祖孙关系判断，实验使用的遗传标记平均非祖父母排除率应不小于 0.9999。为了避免潜在的突变影响，任何情况下都不能仅根据一个遗传标记不符合遗传规律就作出排除意见。任何情况下都不能为了获得较高的祖孙关系指数，将检测到的不符合遗传规律的遗传标记删除。在满足上述条件下，累计祖孙关系指数大于 10000 时，支持被检测夫妇是孩子生物学祖父母的假设；累计祖孙关系指数小于 0.0001，支持被检测夫妇不是孩子生物学祖父母的假设。在不满足上述指标时，应通过增加检测的遗传标记来达到要求。否则，建议无法作出鉴定意见。

2 同卵双生子甄别的难点

同卵双生子（MZ）由一个受精卵发育而来，具有相同或高度相似的 DNA 序列，采用目前个体识别所用遗传标记（STR、mtDNA、VNTR、单核苷酸多态性 SNP、缺失多态性 InDel 等）均不能有效甄别，这使涉及 MZ 案件的侦查和审理陷入尴尬。迄今为止，不少国家因案件中无法确定 MZ 中谁是犯罪嫌疑人而将其一并释放，我国也发生过类似的情况。针对双生子案件的侦查和审判需求，探索 MZ 特异性识别技术具有重要意义和价值。

2.1 MZ 个体的遗传学差异

研究表明，MZ 基因型相同或高度相似，但存在表观遗传学上的差异。表观遗传是指基因组序列不发生变化而基因表达（组蛋白甲基化、乙酰化、泛素化、磷酸化、糖基化等已知机制）出现可遗传变化的一种反经典遗传现象。即基因组含有两类遗传信息：一类是经典遗传学信息，即由 DNA 序列提供的遗传信息；另一类是表观遗传学信息，提供了细胞内随时发生的化学修饰如何影响基因的活动。

2.2 MZ 特异性识别策略

通过法医生物学、法医遗传学等手段来甄别 MZ，主要是抗体库、甲基化、基因突变等的差异比较策略。针对不同的抗原（如花粉、灰尘、病原体等），每一个个体会经过基因重组产生不同的抗体，形成自己特异的抗体库基因。对 MZ 进行甄别的重要目的是防止犯罪嫌疑人间相互“顶包”，减少冤假错案的发生。司法实践中可采集 MZ 的样本，找出两者抗体库基因的差异，然后从犯罪现场的物证中提取 DNA 检材，比较现场检材与 MZ 抗体库基因的吻合度，进行个体识别。MZ 间的个别 DNA

甲基化位点间甲基化程度的差异甚至超过无关个体的差异。

3 结语

目前，DNA 数据库建设人口覆盖率（截至 2017 年 4 月）达 4.1 %，这对亲缘鉴定工作提供了强大的数据支撑。复杂亲缘关系鉴定等理论和技术尚有许多需要改进和完善的地方，尤其对同卵双生子甄别领域的研究还很有限，检验鉴定方法的推广及应用、行业标准规范的统一等难题还有待探讨。相信随着基因组研究的深入，各种仪器设备、技术方法、规范标准的不断更新完善，复杂亲缘关系鉴定及同卵双生子甄别将不再是 DNA 检验工作中的弱点和难点。

两种方法提取接触性 DNA 的结果

许淑君，程　思

（江苏省宿迁市公安局物证鉴定所，223800）

硅珠法提取和纯化 DNA 经济、稳定，一直是本地实验室常用提取方法，在两例日常案件检材经硅珠法提取效果均不理想后，试着采用磁珠法进行提取，竟均获得较好分型。

1 案情简介

案件 1：2017 年 1 月 12 日，侍岭镇某职工宿舍被盗，现场勘查在宿舍门前提取大便纸送检。

案件 2：2017 年 2 月 5 日，中山路某通信营业厅被盗，现场勘查提取烟蒂送检。

2 实验方法

两例案件均为先使用普通硅珠法提取，检验效果不佳，后采用 M48 提取试剂盒（Qiagen 公司）提取，将余下可疑斑迹附着区全部提取。两次均使用 Identifiler Plus 试剂盒进行复合扩增，扩增体系为 10μL，模板为 4μL。

3 实验结果（图 1~图 4）

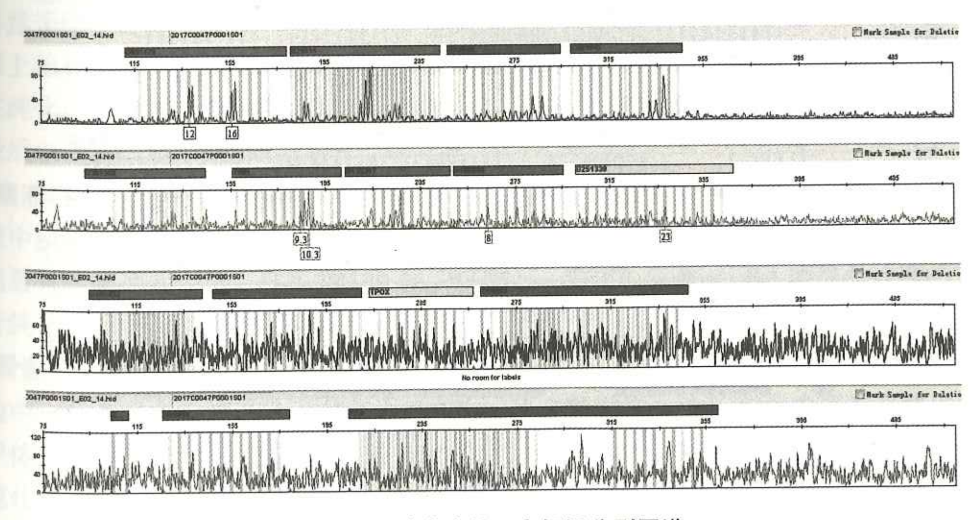


图 1　硅珠方法处理大便纸分型图谱

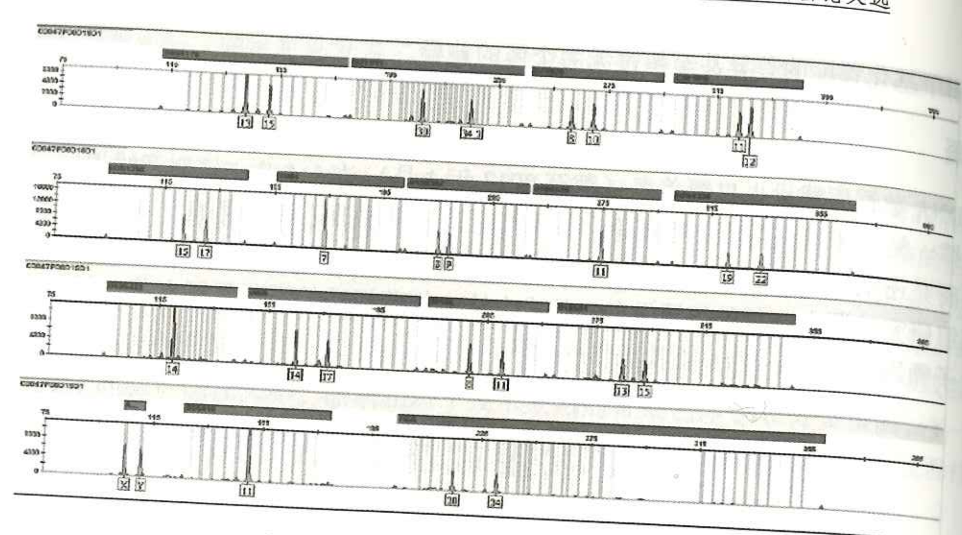


图 2　M48 磁珠方法处理大便纸分型图谱

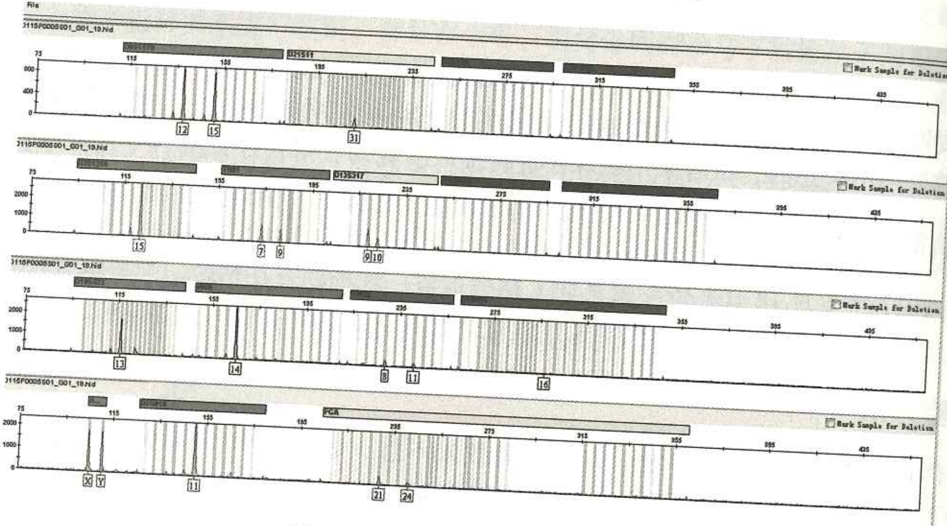


图 3　硅珠方法处理烟头分型图谱

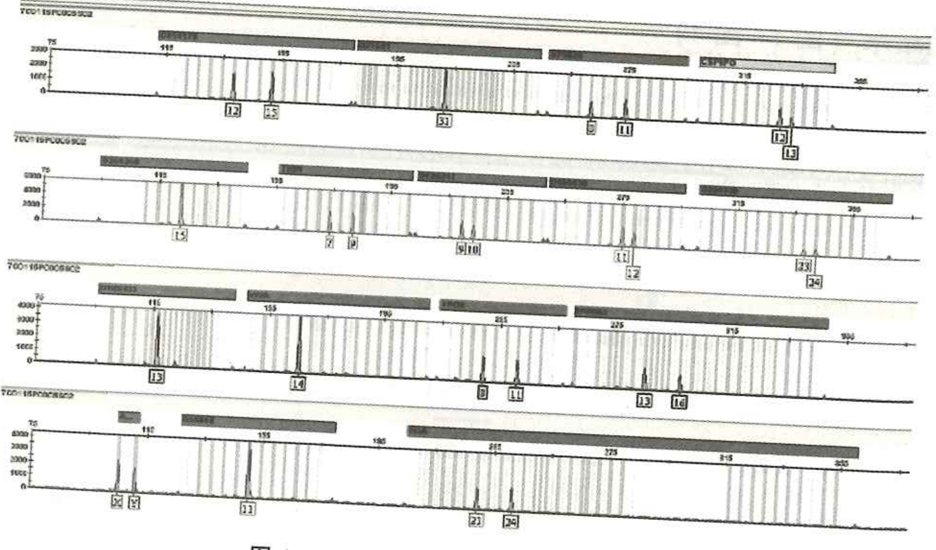


图 4　M48 磁珠方法处理烟头分型图谱

4　讨论

硅珠法或磁珠法提取 DNA 能够去除检材中的大部分 PCR 抑制物，回收的 DNA 相对纯净，且能达到浓缩 DNA 的目的，均是日常检案经常选用的方法。硅珠与磁珠颗粒形态的不同，也可能会导致其吸附 DNA 效果存在差异。以上两例差异，其检验效果有待更进一步研究验证。

实际操作中，在用常规方法提取无法获得满意分型时，可尝试使用多种实验方法并根据检材条件的不同及时调整实验方法，具体问题具体分析解决。

InnuPREP Forensic Kit 试剂盒在现场检材纯化中的应用

于海龙，程　思

（江苏省宿迁市公安局物证鉴定所，223800）

案件现场样本的主要特点是：种类繁杂、样本量少，核酸含量低，含有较多的 PCR 抑制剂。因此，从这些样本中获得高产量、高质量、可以满足 STR 扩增检测要求的基因组 DNA，是日常工作中的重要的一步。在本文中，我们使用 analytikjena 公司的纯化试剂盒 InnuPREP Forensic Kit，对包括血斑、唾液斑和骨骼在内的多种案件常规现场生物检材样本进行纯化，使用商业化 STR 扩增试剂盒进行 STR 分析，得到相关基因分型。

1　材料与方法

本实验中，共选择了三种案件现场常见的生物检材样本进行 DNA 纯化：血斑、唾液斑、骨骼。

1.1　血斑

本实验中选择的血斑样本，来自日常案件检材。载体包括滤纸、FTA 卡、纱线擦拭转移、各种衣物等。检材的最长保存时间 45 天。全部样本共 210 份。同时，其中还包括了 5 份不同浓度梯度样本。系列不同浓度梯度的稀释样本构建方法如下：以 ddH_2O 稀释新鲜血液样本，稀释浓度比例依次为血液：水＝1：1，1：2，1：20，1：50 和 1：100。从每一份稀释样本中，各取 20μL 滴于棉拭子上，并在空气中自然干燥 24h。

所有以上检材应用 InnuPREP Forensic Kit 试剂盒，按照纯化试剂盒的使用说明书中的操作流程进行纯化。在纯化过程中，在裂解液（TLS）中加入了 25μL 蛋白酶 K，以更好地收集微量的核酸分子。纯化产物最后以 30μL 洗脱液洗脱溶解。

1.2　唾液斑

本实验中所采用的唾液斑样本，是从日常案件现场烟蒂中得来。根据案件发生时间长短，推测检材保存时间最长不超过 6 个月，样本共 130 枚。按照 InnuPREP Forensic Kit 试剂盒说明书的操作流程对样本进行纯化。

1.3　骨骼

本实验中，从不同来源共采集了 9 份骨骼样本，所有骨骼样本均从车祸中严重烧焦的尸体或溺水死亡无名尸体上采集得到。经过清洁，8 份骨骼样本切成薄片，1 份样本使用股骨研磨成粉。虽然在从骨骼中纯化 DNA 时，样本量通常为数克，但是在本实验中，为检验 InnuPREP Forensic Kit 试剂盒的纯化质量，仅采用了 200mg 的骨骼样本。

在 DNA 纯化之前，通常的实验方案都会推荐采取一步脱钙处理，以去除抑制 PCR 的矿物质。因

此，针对这一步骤，本实验中的股骨样本使用24h脱钙处理的方法。主要操作为：将骨骼粉末浸泡于10ml EDTA（0.5M，pH 8.0）中，在56℃下保温24h。然后将样本以2000×g离心15min，并将沉积物以2ml去离子水洗涤两遍后，再次2000×g离心15min。

依照InnuPREP Forensic Kit试剂盒的纯化操作程序，在裂解过程中加入了25μL蛋白酶K及30μL 1M DTT，当从含有极微量的DNA的骨骼样本中提取DNA时，在裂解过程中加入1μL辅助试剂Carrier RNA，在56℃下保温24h。最终DNA被洗脱在30μL洗脱液内。

纯化实验结束后，我们从以上案件现场检材中纯化的DNA以ABI AmpFISTR Identifiler Plus PCR Amplification Kit试剂盒进行STR多重扩增，3500XL遗传分析仪进行结果分析。

扩增程序如下：

ABI 试剂盒：

95℃，11min→（94℃ 20sec→59℃ 3min）（28个循环）→60℃，10min→4℃恒温。

2 结果与讨论

利用InnuPREP Forensic Kit试剂盒，针对以上血斑及唾液斑，得到的DNA都能得到完整的STR分型结果。尽管对严重毁坏的案件现场生物检材进行基因分型成功概率较小，但通过InnuPREP Forensic Kit试剂盒，在9份严重烧焦的骨骼样本及溺水死亡无名尸体样本仍有8份纯化得到了可扩增的DNA产物，另一份得到了不完整的DNA产物，后经增加样本量，也能够得到完整的DNA产物，最终所有的DNA样本都扩增得到了较好的实验结果。

从纯化结果分析，该试剂对现场各种检材的纯化能力均较好。我们认为InnuPREP Forensic Kit纯化试剂盒的特点是利用双缓冲液专利技术（Dual Chemistry Technology，以下简称DC技术）。DC技术就是低离子强度的双缓冲液技术，所谓双缓冲液，就是里面有两种缓冲液，即离液盐缓冲液和非离液盐缓冲液。离液盐：可提供合适的裂解环境，维持核酸结构的稳定性，并且易于核酸分子和硅胶膜结合。非离液盐：可使蛋白质变性，破坏膜结构，及解开与核酸相连接的蛋白质，使核酸游离与裂解体系中。双缓冲液体系，可兼顾蛋白质变性、裂解及核酸与硅胶膜的吸附，形成一个非常平衡的化学体系。

3 结论

作为analytikjena公司在近年推出的InnuPREP Forensic Kit试剂盒在国内法医DNA实验室应用较少，但我们认为InnuPREP Forensic Kit纯化试剂盒的特点是利用DC技术结合离心柱式硅胶模的纯化原理，操作步骤简单，提取过程时间较短，适用于各种日常疑难检材的纯化。其使用成本与目前各地实验室使用的进口磁珠试剂盒相当，是各地市级公安机关DNA实验室进行案件现场检材纯化的一个不错的选择。

五种技战法提升微量生物检材的现场发现能力

高林林[1]，刘　松[2]，翟瑞波[3]，周志全[1]

（1. 浙江省杭州市公安局刑事科学技术研究所，310016；2. 浙江省杭州市公安局西湖区分局，310012；3. 浙江省杭州市公安局江干区分局，310020）

随着案犯反侦查意识的不断加强，在凶杀、抢劫、盗窃等各类案件现场，勘查人员想要提取得到血痕、烟蒂等常规生物检材的概率越来越低，只能寄希望于案犯疏忽的微量生物检材能够成为案件侦破的一柄利器。因此，发现有价值的现场微量生物检材就成为了整个DNA检验的首要环节。本文作

者在日常工作中总结了5种技战法来提升微量生物检材的现场发现能力。

1 "1+N"勘查法

这种方法适用于中心现场的勘查。"1"代表一个中心现场，"N"代表中心现场内的多个重点部位。中心现场发现的案犯遗留的生物检材在证据价值和证明力度方面无疑是最高的，因此发现中心现场的生物检材也是现场勘查人员的首要任务。2015年西湖某别墅区发生特大系列盗窃案，多个保险箱被撬。在案发中心现场，针对案犯触碰过的多个重点部位提取了保险箱、珠宝盒等多个微量生物检材，经DNA检验后通过DNA数据库比对，直接比中2名违法犯罪人员。此案在短时间内直接告破且人赃俱获主要得益于针对一个范围较大的中心现场，能够选取有价值的多个重点部位进行仔细勘查，最终发现了保险箱上细微的手套纤维等关键性的微量生物检材。

2 外围拓展法

凶杀案、侵财性案件等一般案犯都有踩点、预谋，或作案后丢弃、销毁与案件有关的物品，因此，合理拓展外围现场的勘查，提取有效的生物检材会大大提高案件的侦破。譬如2016年4月某日，江干区某小区一居民家中发生一起入室持刀抢劫案。犯罪嫌疑人戴手套作案，在中心现场未获得犯罪嫌疑人DNA信息。由于此案社会影响非常恶劣，现场勘查人员最终在距中心现场2公里的另一个小区的垃圾桶内发现了犯罪嫌疑人遗弃的手套。在这只手套上不仅检出了一名男性DNA信息，更通过Y-STR的检验与中心现场捆绑受害人胶带纸进行了有效关联，最终通过DNA数据库使该案成功获得了突破。一般而言，犯罪嫌疑人对外围现场的防护不太重视，容易遗留生物物证，通过对外围现场搜索的拓展往往可得到意想不到的收获。

3 视频定位法

虽然在偏远地区的视频监控设备不够完善，但目前在城区范围内的监控设备无论是小区内还是道路上都比较完善。利用视频监控资料追踪犯罪嫌疑人轨迹是当下刑事技术的一大撒手锏。那么在追踪犯罪嫌疑人轨迹过程中可以发现犯罪嫌疑人由于疏忽而遗留下来的生物检材，也可以通过视频监控发现犯罪嫌疑人在中心现场的活动过程从而来精准地提取生物检材。2012年6月某日，在杭州市西湖区一金店被犯罪嫌疑人用砖头砸碎柜台玻璃后盗走黄金项链几十条。由于犯罪嫌疑人戴帽子、口罩、手套作案，能够提取到有效的生物检材的可能性非常渺茫，后通过反复观看金店视频监控，发现犯罪嫌疑人在翻越柜台时手、脚有在柜台上支撑，后结合视频监控资料，对该处柜台表面所铺的绒布进行吸附，通过细致的DNA检验后获得了单一的STR分型，并在DNA数据库中比中一名前科人员。该案的成功破获进一步凸显了视频监控资料在生物检材现场发现方面的价值。

4 阵控倒查法

小型金店、二手回收店等都是公安机关重点关注的赃物销售点。犯罪嫌疑人在财物得手后往往通过上述店铺来进行销赃。侦查人员可利用这一特点来对案件进行倒查及溯源。2015年在杭州市某城乡结合区发生一起入室盗窃案，被盗笔记本电脑等物。由于该案未在现场提取到有效的痕迹物证，使案件的侦破遇到了"瓶颈"，在特情人员的信息反馈中，二手回收店内提取到欲低价出售赃物的犯罪嫌疑人喝过的一次性水杯，经STR检验后通过DNA数据库比中了前科人员，而该赃物（笔记本电脑）上的串号也成功与失主的购买发票串号比对一致。从而将人员与案件通过阵控点提取的微量生物检材关联起来。通过这一方法成功抓获了诸多的盗窃团伙。

5 合理想象法

在现场勘查过程中，提取生物检材也需要根据生活经验等进行认真分析及合理想象，只有这样，才能提取到有价值的、检出率高的生物检材。从已破案件及日常生活中总结经验，合理运用到犯罪现场对生物检材的提取中。2017 年 3 月，在杭州市郊区一农宅内发生一起入室盗窃案，放于家中二楼卧室内的保险柜被盗，损失价值 50 余万元。后在外围一配电房内发现了被盗的保险柜，该保险柜已被撬并盗走了柜内现金及黄金等财物。在勘查此现场中，技术人员探讨该保险柜约 1.5 米高，2 名犯罪嫌疑人在运送保险柜过程中必定要用很大力气，在手与柜体接触的支撑处可能遗留有脱落细胞，后在柜体底部经过仔细擦拭后检出了一名男性 DNA 信息，直接比中了贵州籍前科人员，在此证据的强力支撑下，侦查人员迅速将案犯抓获归案。

在“一长四必”的现场勘查机制下，要想提取到有效的微量生物检材，不仅要细心，耐心，更要利用有效的技战法来共同提高生物检材的提取率，实现 DNA 证据的最大利用价值。

不同方法初提粗纱手套脱落细胞优化比较

赵　杨[1]，薛天羽[2]

（1. 浙江省宁波市鄞州区公安司法鉴定中心，315100；2. 浙江省宁波市公安司法鉴定中心，315207）

随着现在指纹技术知识的普及，案件现场中手套特别是粗纱手套逐渐成为了常规普遍检材。但粗纱手套内侧的脱落细胞是佩戴人的手部与手套棉线发生摩擦等作用而转移得到的，属于接触性生物检材。通常人手与载体接触时皮屑自然脱落情况有个体差异性，皮肤光滑程度、代谢情况、佩戴时间等均是影响因素，人体手部脱落细胞检出率还受环境、温度等外界条件影响。因此，防污染而高效的脱落细胞的转移初提方法，成为了粗纱手套 DNA 检出的关键。

笔者将不同方法初提的粗纱手套脱落细胞进行同一方法检测，根据得到差异性结果，甄选出最优化转移初提方法。

1 实验过程

1.1 实验材料与方法

检测材料为 2009—2016 年本实验室受理的 10 只手套。将每个手套内侧翻出后，先用脱落细胞黏附器（公安部物证鉴定中心）在其掌心、指缝等处反复粘取直至此面粘纸无黏性，用镊子揭下粘纸，再用反面继续粘取，至两面均无黏性，用剪刀剪碎放入 1.5mL 离心管中；再用生物物证提取专用棉签（公安部物证鉴定中心）在其掌心、指缝等处采用干湿两步法擦拭，用剪刀将棉签剪碎放入 1.5mL 离心管中；最后用脱落细胞吸附仪（公安部物证鉴定中心）在其掌心、指缝等处吸取后，将吸附膜分为第一层和第二层加第三层两份检材分别用剪刀剪碎放入 1.5mL 离心管中。

在每个放入检材的 1.5mL 离心管中放入 PrepFiler BTA 裂解液浸没，56℃干浴 2h，取上清液至新专用 1.5mL 无盖离心管中上 Automate 自动工作站进行 DNA 纯化提取，从而避免提取纯化过程中的人为差异，纯化后 DNA 模板体积为 50mL。采用 Identifiler　Plus 试剂盒进行复合扩增，扩增体系为 10μL，其中 DNA 模板 4μL，扩增产物在 AB 3500XL 型基因分析仪检测，用 GeneMapper ID-X 软件进行 STR 分型分析。

1.2 实验结果与分析

表 1　不同初提方法对粗纱手套 DNA STR 分型的影响

结果	扩增产物结果（个）		
	粘取	擦拭	吸附
扩增产物分型完全（检出 16 个 STR 基因座）	0	1	4
检出混合 STR 基因座分型	0	1	4
未检出分型（检出 5 个及以下 STR 基因座）	10	8	2

从表 1 中可知，使用脱落细胞吸附仪的粗纱手套检出数最高，生物物证提取专用棉签擦拭的检出率次之，而脱落细胞黏附器粘取的则完全没有检出。但脱落细胞吸附仪提取的脱落细胞检出混合分型数也是最高的，针对脱落细胞吸附仪扩增产物结果的进一步分析发现，脱落细胞吸附仪吸取样本的时间对混合 STR 基因座分型检出数有明显影响。（见表 2）

表 2　不同吸附时间对粗纱手套 DNA STR 分型的影响

结果	扩增产物结果（个）	
	<13S	≥13S
扩增产物分型完全（检出 16 个 STR 基因座）	2	2
检出混合 STR 基因座分型	1	3
未检出分型（检出 5 个及以下 STR 基因座）	1	1

从表 2 中可知，脱落细胞吸附仪吸附时间<13s 时，虽然检出数和未检出数与≥13s 的相同，但<13s 时的混合 STR 基因座分型检出数明显少于≥13s 的。可见过多的吸附时间并不具有优势，反而可能吸附更多的外源污染，影响检测结果。

本次实验综合分析表 1 和表 2 的结果可知，用脱落细胞吸附仪吸取粗纱手套内侧且吸附时间<13s 为最优化的初提方法。

2 讨论

脱落细胞黏附器在绳索、包装袋、作案工具等载体上提取到脱落细胞并成功检测出结果的案例多见报道，但本次实验中粗纱手套的提取效果中却不理想。通过对脱落细胞黏附器提取过程的观察分析发现，不同于纤维编织比较紧密的绳索，也不同于包装袋、作案工具等比较光滑、渗透性差的载体，粗纱手套易脱落细小纱线纤维，黏附器上的粘纸很快因粘满纱线纤维而失去黏性，而此时黏附器只粘取到少量的手套内侧表层的脱落细胞，造成无法检出出结果。

生物物证提取专用棉签的两步提取法是各种载体检材中转移脱落细胞应用最为普遍、检出效果较好的方法，但从实验结果来看，它对粗纱手套的提取效果也不理想。分析其原因主要可能是因为粗纱手套在佩戴时随着手部与手套内侧的摩擦和汗液在棉纱纤维中的层层浸透，手部的脱落细胞也从手套内侧表层逐渐渗透到手套纱线纤维中去，而棉签的两步提取法主要还是提取了手套内侧表层的脱落细胞，而对深层纤维中附着的脱落细胞却不能粘附上。

脱落细胞吸附仪从实验结果来看初提粗纱手套效果最佳。因为粗纱手套与犯罪嫌疑人的手掌接触面大，而且极易脱落细小纤维，用脱落细胞黏附器粘取或棉签擦拭的方式难以获得足够的脱落细胞，而用脱落细胞收集仪吸附的方法的特点既可以将细小纤维阻隔于第一层吸附滤膜外，又能将粗纱手套整个内侧表面及深层的脱落细胞集中转移到滤膜上，达到富集的目的。

但特别需要注意的是，采用脱落细胞吸附仪方法提取粗纱手套或类似渗透性纤维检材时，要严格控制吸附的时间。过长时间的吸附虽然可以提高脱落细胞的采集量，却也会增加手套外侧外源污染和无关脱落细胞提取的可能性，造成单一个体的脱落细胞污染成多个体的脱落细胞，降低 DNA 检出的可靠性和有效性。

【参考文献】

[1] 袁丽，鲁涤，姜伯玮，等. 手部皮肤脱落细胞的 DNA 检验 [J]. 中国法医学杂志，2010 (4)：270-271.

[2] 张竹，李小强. 绳索上脱落细胞 STR 检验 1 例 [J]. 中国司法鉴定，2012 (6)：167.

[3] 李越，刘超，冯冬亮. 凶器包装袋内面脱落细胞 STR 检验 1 例 STR 检验 1 例 [J]. 中国法医学杂志，2011 (1)：79

[4] 刘亚举，孙现锋，徐超，等. 生物脱落细胞提取仪联合 EZ-tape 胶带侦破命案 1 例 [J]. 法医学杂志，2012 (3)：235.

[5] 王玉健，李澎，李雪，等. 衣帽上脱落细胞微量 DNA 检测方案初探 [J]. 中国法医学杂志，2007 (2)：49-50.

[6] 袁则平. 棉签二次转移法有效提取现场手套印脱落细胞 DNA [J]. 刑事技术，2007 (2)：50-51.

[7] 徐秀兰，王冲，石屹等. 人体脱落细胞 DNA 检测 1 例 [J]. 中国法医学杂志，2011 (5)：426-427.

网格化提取在现场中的应用

潘引子，赵建平

（浙江省宁海县公安司法鉴定中心，315600）

1 案例资料

案例 1：2012 年 11 月 13 日夜，某县某村发生了一起入室盗窃案，据介绍案犯插片开锁入室，案犯翻动过事主的内衣，在翻动事主内衣时，事主惊醒，案犯落荒而逃。

现场提取了案犯翻动过的事主内衣，由于内衣贴身穿着富含事主大量的脱落细胞，DNA 技术人员根据内衣现场原始摆放形状及案犯翻动后的形状进行分析，确定重点区域后，对内衣进行网格化提取，转移 30 余处斑迹，采用硅珠法提纯，高循环平行扩增，有两处检出了不同于事主的另一名男子 DNA 谱带，经数据库比对，比中一名嫌疑人龙某（男，30 岁，贵州松桃人）。DNA 技术人员会同侦查部门通过龙某串并破获了 50 余起系列性侵财案件。

案例 2：2016 年 10 月 30 日晚，在某县某街道柔石公园人工湖旁凉亭内发生一起抢劫案。据介绍受害人项某正在休息，突然被一男子用木棒边击打边威胁：不拿出钱来就打死他。木棒打击受害人左手臂时发生断裂，嫌疑人抢到 1000 多元现金，带着残留在手上的半截木棒逃离。

现场提取了遗留在凉亭内的半截木棒，了解案情后，DNA 技术人员分析木棒上既可能留有受害人被打击部位皮肤的脱落细胞，也可能留有嫌疑人手抓握过留下的脱落细胞，在提取时为了尽量避免不同区域斑迹的相互污染，决定对木棒进行网格化提取，转移 20 多处斑迹。采用硅珠法提纯后，有 3 处检出了不同于受害人的另外一名男子的 DNA 谱带，经比对，比中一名嫌疑人李某某（男，38 岁，内蒙古人）。将该结果告知侦查部门，嫌疑人李某某被抓捕归案后，对案情交代无误。

2 讨论

网格化提取法，是指针对可能遗留多人 DNA 特别是脱落细胞的生物检材，由于不同人员遗留 DNA 位置的不确定性，大面积转移容易造成不同部位不同人员 DNA 相互混合，带来二次污染。通过网格化划分提取，可能获得某一单独个体 DNA 信息，达到个体识别的方法。本方法适用于可能遗留有多人 DNA 的生物性检材，如多人接触过的工具、受害者衣物等。

上述案件中的检材都有可能遗留有多人 DNA 的生物性检材，而实际现场中这一类检材常见于接触性生物检材，是一种低拷贝（LCN）DNA。这一类检材存在几个问题：1. 现场提取时有一定的难度，对于织品类柔软的载体很难维持它在现场中原有的形状，移动后无法通过其形状分析案犯接触检材的重点部位。2. 现场没有合适的包装，对于棍棒刀剑类的大型检材由于形状特殊，很难对其进行整体包装，实战中多数采取暴露一部分在外的方法进行包装，敞开式的包装极易造成污染。3. 运输过程中容易发生位移和碰撞，这一类检材最合适的是用纸箱进行包装，但纸箱包装存在的弊端是检材在箱内无法固定，在运输过程中发生的位移和碰撞都会使检材不同部位发生摩擦，造成不同部位 DNA 相互混合、相互污染。

针对上述问题，笔者结合现场勘查，发现通过采用网格化提取后可以较好地规避这一类检材所存在的这些问题，而可能获得某一单独个体 DNA 信息，降低了这一类检材检验结果的混合率。笔者总结了进行网格化提取时需要注意的要点：

网格化划分时要结合载体的属性确定网格的大小。载体属性的不同，会导致人体抓握时接触面的不同。如棍棒类检材以指尖抓握较难形成，大多以人体手掌为接触面，故网格应以掌为单位划分。

兼顾载体表面特性，提取要有重点。对于质地较硬、表面凹凸不平、粗糙的载体，在网格化划分时，要特别注意凹凸部分和粗糙部分。这些部位与人体接触时应表面的特性造成摩擦力的不同，遗留的脱落细胞相较于其他部位更多，获得某一单独个体 DNA 信息的可能性就更大。

网格化划分要与现场相结合。DNA 的提取是一种技术人员主观性的选择，对于大型检材的处理要有重点意识。DNA 技术人员需要与勘查人员充分交流，重建现场或者直达现场，根据现场所在位置，刻画案犯最可能形成的动作，获得大型检材案犯最可能接触的重点部位。针对这一重点部位进行分析和制订相对应的网格化提取计划，来增加获得某一单独个体 DNA 信息的概率。

网格化划分时要准确标记、拍照并详细记录，避免不同区域之间相互混淆。各个网格的检验结果相互关联，与案犯的作案过程相互印证。互相混淆后直接影响了检验结果的科学性和合法性，使检材失去了证据作用。

提取检材上可能遗留 DNA 的相关人员的样本作为对照。网格化提取无法完全排除混合 DNA 谱带的出现，但能有效地减少混合个体的数目，在有效混合样本出现时，通过对检材上可能遗留 DNA 的相关人员的排除，就可能获得某一单独个体 DNA 信息。

D21S11 基因座检出三带型等位基因一例

朱宇刚，滕璐嘉，王 伟，黄 聪

（浙江省宁波市慈溪市公安局刑侦大队 DNA 实验室，315300）

1 案例资料

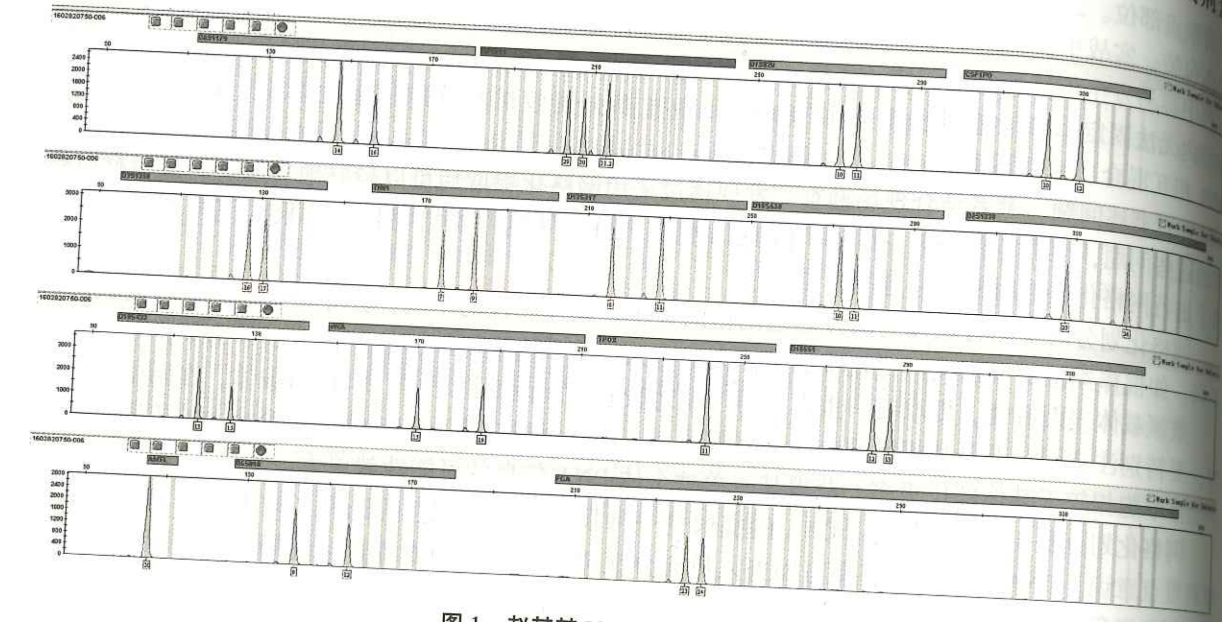
1.1 简要案情

2016 年 10 月 22 日，在慈溪某街道发生一起强奸案，现场勘察人员及医生提取了现场及人员的相关生物检材。为明确案情，现场勘察人员将这些提取到的生物检材送 DNA 实验室检验。

1.2 方法及结果

按《法庭科学 DNA 实验室检验规范》（GA 766-2008、GA/T 383-2014）中 Chelex 法、差异

裂解法（二步法）、硅珠法提取 DNA 的方法操作提取相关检材 DNA。采用 Identifiler Plus 试剂盒进行 PCR 复合扩增并进行 STR 分型。其中受害者赵某某的 D21S11 基因座检出三带型等位基因，分别为 29、30、31.2（见图 1~图 2），其电泳锋高和锋面积之比约均为 1∶1∶1。经三次重新提取平行扩增，排除了模板污染、PCR 扩增引起的非特异产物和泳道渗漏等问题。后经 PP21 和 Typer-21G 试剂盒验证，受害者赵某的 D21S11 基因座均为三带型等位基因且和 Identifier Plus 试剂盒一致。



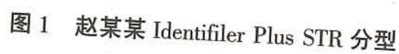


图 1　赵某某 Identifiler Plus STR 分型

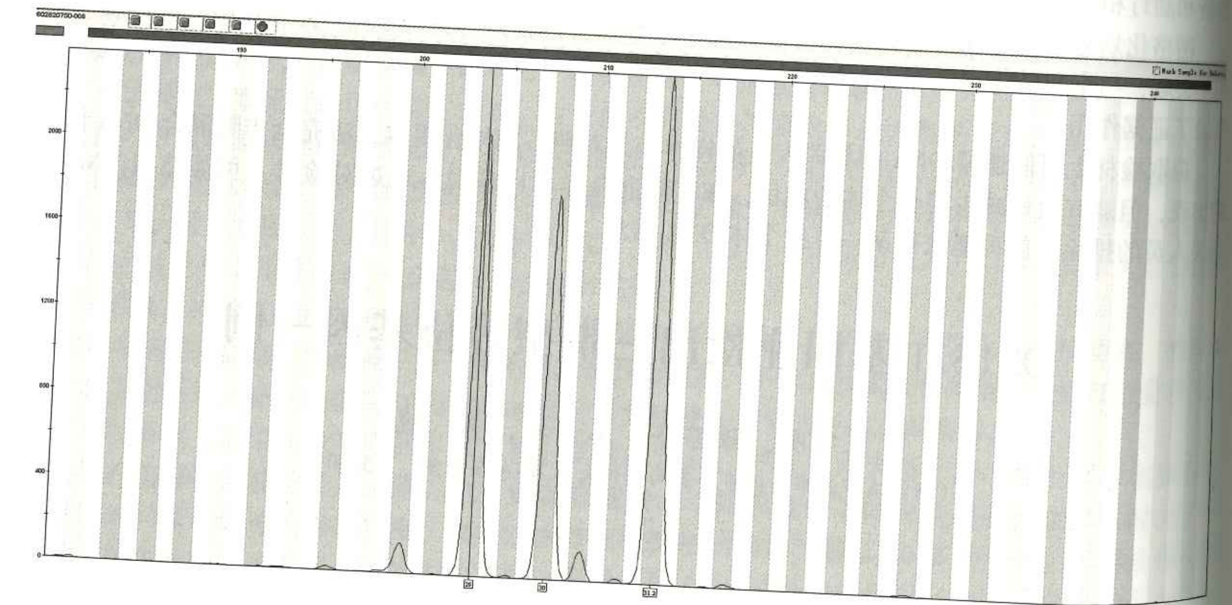


图 2　赵某某 Identifiler Plus D21S11 基因座分型

2　讨论

根据孟德尔遗传定律，控制遗传性状的等位基因在亲代与子代之间的传递规律是：子的一对等位基因必定是一个来自父亲，一个来自母亲；孩子不可能带有双亲均没有的等位基因。一般人二倍体细

胞含有 23 对 46 条染色体，其中 22 对为常染色体，男、女性共有，一对为性染色体决定性别。因此，正常情况下二倍体细胞不会出现三带型等位基因的现象。

自 Crouse 等于 1999 年首次报道了三带型等位基因（tri-allelic pattern）现象，截至 2017 年 4 月 28 日，在 STR 数据库（http://www.cstl.nist.gov/strbase/tri_ tab.htm）中收录的三带型等位基因 401 例，常染色体基因座 23 个 337 例，Y 染色体基因座 15 个 64 例。其中 D21S11 基因座 27 例，本案例中检出的 D21S11 基因座三带型 29、30、31.2 尚未收录。

STR 基因座分型时出现三带型等位基因的确切机理还不是很清楚，可能与以下几个因素有关：三体综合征，父系或母系同源染色体在减数分裂的时不分离而整体遗传给子代，即三体综合征，可以经过染色体的核型分析确定；同源染色体在减数分裂时发生不等价交换；受精卵发育阶段染色体不分离形成的不同基因型细胞的嵌合体；双胞胎在胚胎发育阶段发生血液交换；染色体上有额外的引物结合位点；异基因骨髓或造血干细胞移植后形成的嵌合体，形成三或四带等位基因。有的研究显示，同一基因座在不同人群中出现三等位基因的模式可能不同。

在实际案件检验中，当检出三带型等位基因时，务必要谨慎判断。首先，要在内标、Ladder 和阴阳对照正确的前提下分析。其次，用同一试剂盒进行平行重复提取扩增电泳检验，以期排除模板污染、PCR 扩增引起的非特异产物及泳道渗漏等实验操作和仪器硬件的问题。最后，应用不同的试剂盒进行相互验证性检验，以期排除不同试剂盒之间引物设计不同而造成的不同结果，从而保证检验结果的准确性。另外，如果有实验条件，可以根据需要进行直接测序、染色体核型检测等方法进行更精细的研究。

【参考文献】

[1] Crouse C. A., Rogers S., Amiott E., et al.. Analysis and interpretation of short tandem repeat microvariants and three banded allele patterns using multiple allele detection system [J]. J Forensic Sci, 1999, 44 (1): 87-94.

[2] 郭保华. DNA 分型异常提示 21-三体综合征一例 [J]. 广东公安科技，2013 (3)：61-62.

[3] 唐剑，李晋齐. D18S51 基因座检出三带型等位基因一例 [J]. 中华医学遗传杂志，2013，12 (30)：745-746.

[4] 李璞. 医学遗传学 [M]. 北京：中国协和医科大学出版社，2004：26-127.

[5] Rubocki R. J., McCue B. J., Duffy K. J., et al.. Netural DNA mixtures generated in fraternal twins in utero [J]. J Forensic Sci, 2001, 46 (1): 120-125.

[6] Picanco J. B., Raimanm P. E., Paskulin G. A., et al.. Tri-allelic pattern at the TPOX locus: a familial study [J]. Gene, 2014, 535 (2): 353-358.

[7] 韩莉莉，潘棱，沈晓丽，等. STR 基因座中检出三带型等位基因三例及遗传分析 [J]. 海南医学，2011，22 (15)：1-3.

[8] 刘秋玲，赖运科，吕德坚，等. TPOX 基因座遗传多态性及三等位基因研究 [J]. 证据科学，2010，18 (6)：748-749.

浙江慈溪地区汉族人群 20 个 STR 基因座遗传多态性

朱宇刚，滕璐嘉，黄　聪，王　伟

（浙江省慈溪市公安局 DNA 实验室，315300）

应用 PowerPlex© 21 System 荧光标记复合扩增系统对 850 名籍贯为浙江慈溪地区的汉族无关个体进行了 20 个 STR 基因座的基因分型，获得了浙江慈溪地区汉族群体遗传学调查数据，为法医学个人识别和亲权鉴定提供了基础数据。

1 材料和方法

1.1 材料

850 份血样来自作者单位历年前科人员建库血样中浙江慈溪籍贯的无关汉族个体。

1.2 方法

Chelex 法提取 DNA，采用 PowerPlex© 21 System 剂盒和 AB-9700 扩增仪进行 PCR 复合扩增，采用 ABI3130 的全自动遗传分析仪进行检测，使用 GeneMapper ID3.2 分析软件得到 STR 分型结果。

1.3 数据统计分析

等位基因频率、等位基因数、基因型数、杂合度期望值（He）、杂合度观察值（Ho）、偶合率（Pm）、个体识别率（DP）、多态信息含量（PIC）、非父排除率（PE）、父权指数（TPI）以及该 20 个基因座的累计个人识别率（TDP）、累计非父排除概率（CPE）。

2 结果

浙江慈溪汉族 850 例无关个体 20 个 STR 基因座共检测到 259 个等位基因，其频率在 0.0010～0.5050（见表 1）。经 λ^2 检验，20 个 STR 基因座的基因型分布（除 D16S539 和 vWA 外）均符合 Hardy-Weinberg 平衡（P>0.05），D16S539 和 vWA 经过用并组法对这两个基因座群体调查资料的数据结构进行调整，D16S539 和 vWA 基因座也符合 Hardy-Weinberg 平衡（P>0.05）。各 STR 基因座的等位基因频率、等位基因数、基因型数、杂合度期望值（He）、杂合度观察值（Ho）、偶合率（Pm）、个体识别率（DP）、多态信息含量（PIC）、非父排除率（PE）、父权指数（TPI）以及该 20 个基因座的累计个人识别率（TDP）、累计非父排除概率（CPE）等法医遗传学应用参数（见表 2）。

表 1 浙江慈溪地区汉族人群 20 个 STR 基因座等位基因频率（n=850）

CSF1PO		D3S1358		D5S818		D8S1179		D13S317		D16S539		TH01	
A	F	A	F	A	F	A	F	A	F	A	F	A	F
7	0. 0010	12	0. 0010	7	0. 0220	8	0. 0010	7	0. 0040	6	0. 0010	6	0. 1010
8	0. 0010	13	0. 0010	8	0. 0050	10	0. 1250	8	0. 2910	8	0. 0090	7	0. 2770
9	0. 0650	14	0. 0500	9	0. 0660	11	0. 0940	9	0. 1640	9	0. 2910	8	0. 0520
10	0. 2320	15	0. 3380	10	0. 1960	12	0. 1350	10	0. 1310	10	0. 1300	9	0. 5000
11	0. 2320	16	0. 3360	11	0. 3160	13	0. 2080	11	0. 2150	11	0. 2380	9. 3	0. 0360
12	0. 3760	17	0. 1970	12	0. 2430	14	0. 1820	12	0. 1610	12	0. 1960	10	0. 0350
13	0. 0780	18	0. 0720	13	0. 1440	15	0. 1680	13	0. 0320	13	0. 1120		
14	0. 0140	19	0. 0050	14	0. 0080	16	0. 0710	14	0. 0040	14	0. 0190		
15	0. 0010					17	0. 0150			15	0. 0020		
						18	0. 0010						

TPOX		vWA		D2S1338		D6S1043		D7S820		D12S391		D18S51	
A	F	A	F	A	F	A	F	A	F	A	F	A	F
5	0. 0010	13	0. 0010	15	0. 0010	8	0. 0010	8	0. 1380	15	0. 0100	7	0. 0010
8	0. 5050	14	0. 2530	16	0. 0110	9	0. 0040	9	0. 0680	16	0. 0040	9	0. 0010
9	0. 1210	15	0. 0320	17	0. 0590	10	0. 0260	9. 1	0. 0020	17	0. 1010	10	0. 0030

续表

TPOX		vWA		D2S1338		D6S1043		D7S820		D12S391		D18S51	
A	F	A	F	A	F	A	F	A	F	A	F	A	F
10	0. 0250	16	0. 1890	18	0. 1090	11	0. 1050	10	0. 1590	18	0. 2280	11	0. 0020
11	0. 3250	17	0. 2350	19	0. 1810	12	0. 1510	10. 1	0. 0010	18. 3	0. 0010	12	0. 0430
12	0. 0220	18	0. 1810	20	0. 1100	12. 3	0. 0010	11	0. 3540	19	0. 2150	13	0. 1960
13	0. 0020	19	0. 0870	21	0. 0260	13	0. 1360	11. 3	0. 0010	20	0. 1750	14	0. 2190
		20	0. 0190	22	0. 0510	14	0. 1330	12	0. 2380	21	0. 1090	15	0. 1640
		21	0. 0020	23	0. 2410	15	0. 0130	13	0. 0390	22	0. 0710	16	0. 1240
				24	0. 1470	16	0. 0050	14	0. 0020	23	0. 0510	17	0. 0780
				25	0. 0540	17	0. 0400			24	0. 0230	18	0. 0430
				26	0. 0090	18	0. 1850			25	0. 0080	19	0. 0480
				27	0. 0020	18. 2	0. 0010			26	0. 0020	20	0. 0330
				29	0. 0010	19	0. 1310			27	0. 0010	21	0. 0210
						20	0. 0540					22	0. 0180
						20. 3	0. 0010					23	0. 0030
						21	0. 0110					24	0. 0020
						21. 3	0. 0030					25	0. 0010
						22	0. 0010					26	0. 0010

D19S433		D21S11		FGA		PentaE		PentaD		D1S1656	
A	F	A	F	A	F	A	F	A	F	A	F
11	0. 0020	27	0. 0020	13	0. 0010	5	0. 0490	6	0. 0040	9	0. 0020
12	0. 0450	28	0. 0480	14	0. 0010	6	0. 0010	7	0. 0040	10	0. 0020
12. 2	0. 0030	28. 2	0. 0090	16	0. 0010	8	0. 0040	8	0. 0550	11	0. 0710
13	0. 2890	29	0. 2790	17	0. 0020	9	0. 0060	9	0. 3300	12	0. 0390
13. 2	0. 0450	29. 2	0. 0020	18	0. 0240	10	0. 0410	10	0. 1220	13	0. 0960
14	0. 2510	30	0. 2750	19	0. 0440	11	0. 1510	11	0. 1440	14	0. 0850
14. 2	0. 1040	30. 2	0. 0090	20	0. 0480	12	0. 1240	12	0. 1650	15	0. 2990
15	0. 0670	30. 3	0. 0070	21	0. 1020	13	0. 0510	13	0. 1290	15. 3	0. 0020
15. 2	0. 0420	31	0. 1020	21. 2	0. 0050	14	0. 0820	14	0. 0330	16	0. 2110
16	0. 0090	31. 2	0. 0680	22	0. 1850	15	0. 1050	15	0. 0140	16. 3	0. 0060
16. 2	0. 0380	32	0. 0320	22. 2	0. 0080	15. 4	0. 0010	16	0. 0010	17	0. 0880
17	0. 0010	32. 2	0. 1180	23	0. 1990	16	0. 0730	17	0. 0010	17. 3	0. 0580
17. 2	0. 0040	33	0. 0040	23. 2	0. 0050	17	0. 0740			18	0. 0140
18	0. 0010	33. 2	0. 0400	24	0. 2020	18	0. 0890			18. 3	0. 0220
		34	0. 0010	24. 2	0. 0090	18. 4	0. 0020			19	0. 0030
		34. 2	0. 0050	25	0. 0930	19	0. 0560			19. 3	0. 0020
		35. 2	0. 0010	25. 2	0. 0040	19. 4	0. 0010				
				26	0. 0510	20	0. 0480				
				26. 2	0. 0020	21	0. 0180				
				27	0. 0110	22	0. 0150				
				28	0. 0010	23	0. 0080				
				29	0. 0010	24	0. 0020				
						25	0. 0010				

表 2　浙江慈溪地区汉族人群 20 个 STR 基因座法医学应用参数（n=850）

基因座	等位基因数	基因型数	杂合度期望值（He）	杂合度观察值（Ho）	偶合率（Pm）	个体识别率（DP）	多态信息含量（PIC）	非父排除率（PE）	父权指数（TPI）
CSF1PO	9	24	0.8330	0.7460	0.1100	0.8900	0.700	0.5030	1.970
D3S1358	8	25	0.8301	0.7000	0.1200	0.8800	0.680	0.4280	1.670
D5S818	8	29	0.8880	0.7930	0.0870	0.9130	0.740	0.5860	2.410
D8S1179	10	39	0.9416	0.8250	0.0410	0.9590	0.830	0.6460	2.850
D13S317	8	26	0.9121	0.8040	0.0710	0.9290	0.770	0.6070	2.560
D16S539	9	30	0.8892	0.8220	0.0810	0.9190	0.760	0.6410	2.810
TH01	6	21	0.7894	0.6510	0.1650	0.8350	0.610	0.3560	1.430
TPOX	7	15	0.7275	0.6150	0.2020	0.7980	0.560	0.3100	1.300
vWA	9	31	0.9037	0.7740	0.0660	0.9340	0.770	0.5520	2.210
D2S1338	14	63	0.9194	0.8510	0.0380	0.9620	0.840	0.6960	3.350
D6S1043	19	79	0.9216	0.8690	0.0310	0.9690	0.860	0.7330	3.830
D7S820	10	30	0.8528	0.7520	0.0870	0.9130	0.730	0.5130	2.010
D12S391	14	58	0.9054	0.8510	0.0460	0.9540	0.820	0.6960	3.350
D18S51	19	77	0.9050	0.8640	0.0360	0.9640	0.840	0.7220	3.660
D19S433	19	54	0.8947	0.7930	0.0600	0.9400	0.790	0.5860	2.410
D21S11	17	68	0.8632	0.8160	0.0590	0.9410	0.790	0.6300	2.720
FGA	22	92	0.8994	0.8600	0.0370	0.9630	0.840	0.7150	3.570
PentaE	23	132	0.9540	0.9150	0.0150	0.9850	0.910	0.8270	5.900
PentaD	12	41	0.8807	0.8040	0.0590	0.9410	0.780	0.6060	2.540
D1S1656	16	71	0.8866	0.8180	0.0460	0.9540	0.810	0.6320	2.740

20 个 STR 基因座的累计个人识别率，按公式 $TDP=1-(1-DP_1)(1-DP_2)(1-DP_3)\cdots(1-DP_K)$ 计算，TDP 为 $1-5.39052\times10^{-25}$；累计非父排除率，按公式 $CPE=1-(1-PE_1)(1-PE_2)(1-PE_3)\cdots(1-PE_K)$ 计算，CPE 为 $1\sim4.2808\times10^{-9}$。其中 DP_K、PE_K、分别表示第 k 个遗传标记的 DP 值、PE 值。

3　讨论及结论

本文调查了 PowerPlex© 21 System 体系 20 个 STR 基因座在浙江慈溪地区汉族人群的群体遗传学数据，可为法医学个人识别和亲子鉴定提供结果评估的依据。浙江慈溪籍贯的 850 例无关汉族个体 20 个 STR 基因座共检测到 259 个等位基因，其频率在 0.0010~0.5050，共 1005 种基因型。

各基因座的杂合度观察值（Ho）在 0.6150~0.9150，杂合度理论值（He）在 0.7275~0.9540，多态信息含量（PIC）在在 0.560~0.910，个人识别率（DP）在 0.7980~0.9850。其中 PentaE 的 Ho、He、DP、PE、PIC、TPI 值最大，而 TPOX 的最小。这显示对于浙江慈溪地区汉族人群而言，这 20 个基因座中 PentaE 的多态性程度最高，应用于法医学个体识别及三联体亲子鉴定效能最高，而 TPOX 的最低。经计算，累计个人识别率（TDP）达到 $1-5.39052\times10^{-25}$，累计非父排除概率（CPE）达到 $1\sim4.2808\times10^{-9}$。按 Gill 等提出的标准 DP≥0.9、H≥0.7、PIC≥0.7 的 STR 属高鉴别能力的遗传体系来衡量，其中 D5S818、D8S1179、D13S317、D16S539、vWA、D2S1338、D6S1043、D7S820、D12S391、D18S51、D19S433、D21S11、FGA、PentaE、PentaD、D1S1656 16 个基因座属于高鉴别能力的基因座。这说明 PentaE、D6S1043、D18S51、FGA 等 20 个基因座适用于作为浙江慈溪地区汉族人群的个体识别、亲子鉴定的科学依据及建立该地区汉族人群的 STR 基因数据库的基础数据。

【参考文献】

[1] 侯一平. 法医物证学［M］. 北京：人民卫生出版社，2005：14-20，219-220，296-297.
[2] 裴黎. 现代 DNA 分析技术理论与方法［M］. 北京：中国人民公安大学出版社，2002：24-26，28，234-235，340-353.
[3] 朱宇刚，彭祖年，汪林权，等. 宣城地区汉族人群 18 个 STR 基因座遗传多态性［J］. 刑事科学，2014（1）：40-43.
[4] Gill P.，Urquhart A.，Millican E.，et al.. A new method of STR interpretation using inferential logic-development of a criminal intelligence database［J］. Int J Legal Med，1996，109（1）：204.

D13S317 基因座三带型遗传学分析一例

夏　雷，段紫英，富渭鑫
（浙江省温州市公安局刑事科学技术研究所，325000）

目前，国内外法庭科学中个体识别、亲子鉴定主要采用短串联重复序列（Short Tandem Repeats，STR）分型方法。正常人常染色体单个 STR 基因座只有 2 个等位基因，纯合子个体图谱表现为只有 1 个峰或 1 条带，而杂合子个体图谱表现为 2 个峰或 2 条带。三带型（Three-banded pattern）或三等位基因（triallelic pattern）是指在某些情况下单个 STR 基因座出现 3 条峰，且可以重复检验结果的现象。本文报道 1 例在 D13S317 基因座三带型峰高（峰面积）比为 2∶1∶1 的样本，对三带型产生机制及实际应用进行探讨。

1　材料与方法

1.1　简要案情

2016 年 4 月，某辖区宾馆 221 号房间发生一起盗窃案件，在房间内桌上的烟灰缸内提取 2 枚烟蒂。2017 年 1 月，补充送检案件嫌疑人血样。

1.2　方法

1.2.1　DNA 提取

采用 Chelex-100 法提取检材 DNA。

1.2.2　STR 基因座检测

分别采用 Identifiler Plus 试剂盒（美国 AB 公司）、PowerPlex 21（美国 Promega 公司）、PowerPlex Y23（美国 Promega 公司）试剂盒在 9700 型扩增仪上按各试剂盒说明书进行扩增，扩增体系为10μL，扩增产物应用 3500 XL 型遗传分析仪（美国 AB 公司）进行检测并使用 GeneMapper ID-X 软件进行分型。

2　结果

在本案例中，首次送检的 2 枚烟蒂检见相同 STR 分型，其他位点均为正常分型，但在 D13S317 基因座均检出三带型等位基因，基因型依次为 10，12，13（结果见图 1），峰高比约为 2∶1∶1；对

上述检材采用 Powerplex 21 试剂盒进行 PCR 扩增，其结果一致，均得到相同分型和峰高比（结果见图 2）。补充送检中，嫌疑人员血样与 2 枚烟蒂的 STR 分型一致。对上述检材采用 Powerplex Y23 试剂盒进行 PCR 扩增，均获得相同 Y-STR 分型。

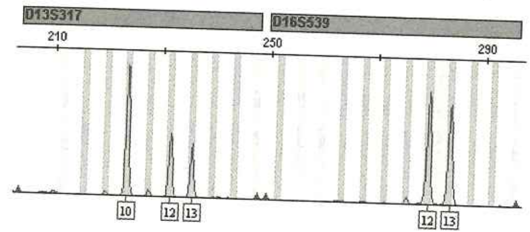




图 1　Identifiler Plus 电泳 D13S317 基因座分型图谱

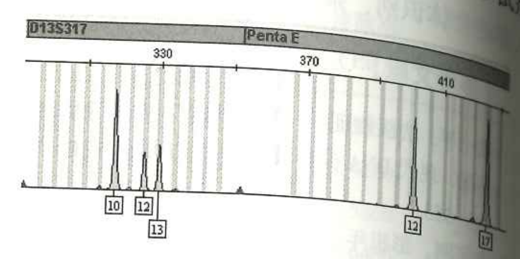


图 2　PowerPlex 21 电泳 D13S317 基因座分型图谱

3　讨论

Crouse 等首次发现 TPOX 基因座及 CSF1PO 基因座出现三带型。近些年来，不断有三带型等位基因被发现。三等位基因的形成机制尚不明确，可能是由于遗传型因素，如染色体在减数分裂或有丝分裂时异常分离导致三体综合征、体细胞突变或嵌合体等；也可能是由于混合样本、Stutter 峰、非特异性 PCR 扩增等非遗传性因素的影响。

在三带型 STR 基因座的报道中，峰高（峰面积）比为 1：1：1 的情况较多见，而峰高（峰面积）比为 1：1：2（2：1：1）的报道较少见。也有报道发现峰高（峰面积）比为 3：2：1 的情况。本文利用 Identifiler Plus、PowerPlex 21 试剂盒对烟蒂及嫌疑人员血样进行检验，在 D13S317 基因座中均检出三带型，且峰高（峰面积）比均为 2：1：1。推测可能是由于该基因座的引物区存在相邻的结合位点，“等位基因” 12，13 相互竞争模板使扩增效率减半。同时，利用 PowerPlex Y23 试剂盒获得相同 Y-STR 分型，说明 D13S317 基因座三带型不是由混合样本、实验室污染、PCR 非特异性扩增造成。查询 STRbase（http：//www. cstl. nist. gov/biotech/strbase/）发现，D13S317 基因座的 10，12，13 三等位基因也已经有相关报道，表明检验结果真实可信。在个体识别案件中，基因座的基因型频率可按 $P=2\times r\times s\times t$ 计算，可以考虑三带型可作为特征基因座在个体识别中加以应用。

在个体识别或亲子鉴定中，三带型基因座可能导致错误判断；因此，STR 位点分型异常应引起重视，利用多种试剂盒、多个基因座分型，排除各个影响因素的干扰（除了上文提到的因素外，如还要注意排除荧光染料污染、pull-up 峰、某基因座过大或过小的 OL 等位基因落在了相邻基因座范围内等），降低错误分析的风险，确保鉴定结论的准确性。

【参考文献】

[1] Crouse C. A. , Rogers S. , Amiott E. , et al.. Analysis and interpretation of short tandem repeat microvariants and three-banded allele patterns using multiple allele detection system [J]. J Forensic Sci，1999，44（1）：87-94.

[2] Lukka M. , Tasa G. , Ellonen P. , et al.. Triallelic patterns in STR loci used for paternity analysis：evidence for a duplication in chromosome 2 containing the TPOX STR locus [J]. Forensic Sci Int，2006，164（1）：3-9.

[3] 曾艳红，孙宏钰，伍新尧，等. STR 基因座中检出三带型等位基因座 5 例 [J]. 中国法医学杂志，2003，18（2）：112-113.

[4] 赖力，薛士杰，何萍. D18S51 基因座检出三带型等位基因 1 例及遗传分析 [J]. 福建医药杂志，2008，30（6）：85-86.

[5] 高祥瑞，孙耀东. 两例 STR 三带型的分析 [J]. 刑事技术，2012（5）：24，31.

[6] 陈芳，陈俭，付颖，等. STR 基因座中检出三带型等位基因 7 例 [J]. 法医学杂志，2014，30（3）：215-216.

[7] 刘莹，任贺. STR 基因座三带型等位基因的统计学分析 [J]. 法医学杂志，2013，29（6）：444-446.

[8] Huel R. L. , Basic L. , Madacki-Todorovic K. , et al.. Variant alleles，triallelic patterns，and point mutations observed in nuclear short tandem repeat typing of populations in Bosnia and Serbia [J]. Croat Med J，2007，48（4）：494-502.

[9] Grubwieser P. , Mühlmann R. , Niedersttter H. , et al.. Unusual variant alleles in commonly used short tandem repeat loci [J]. Int J Legal Med，2005，119（3）：164-166.

浅谈法医 DNA 技术如何正确应用于司法实践

王程宝[1]，富渭鑫[2]

（1. 浙江省温州市公安局瓯海区分局，325000；2. 浙江省温州市公安局刑事科学研究所，325000）

法医 DNA 技术经过几十年的快速发展，在众多疑难案件的侦破中发挥了重要作用，现已作为一种科学证据，在广大刑事案件犯罪

侦查和审判中有着广泛的应用。法医 DNA 技术在司法实践中的应用主要包括现场生物检材的发现和提取、生物检材的保存和送检、生物检材的实验室检验、DNA 检验结果和 DNA 数据库的应用等环节，其中某一个环节出现差错，都有可能影响 DNA 技术的正确应用。本文就法医 DNA 技术如何正确应用于司法实践，提出几点看法以供同行探讨。

1　现场生物检材的发现和提取

“成功的 DNA 分析始于生物物证检材的正确提取、保存和送检”，现场生物检材的发现和提取必须取证主体和取证程序均具有合法性。依据我国刑事诉讼法的相关规定，公诉案件中对法医 DNA 生物检材的取证必须由具有侦查权的机关承担，目前行使侦查权的机关是公安机关、人民检察院、国家安全机关、军队保卫部门、监狱等；自诉案件中，法医 DNA 生物检材的取证可以实行自诉人为主，侦查机关为辅的原则。同时，为了确保在接下来的法庭质证中，法医 DNA 证据能得到法庭的最终接纳，取证主体在侦查程序中对相关生物检材的处理必须符合诉讼程序，否则法庭将可能根据非法证据排除规则而予以排除。

现场生物检材的发现和提取是法医 DNA 技术应用于司法实践的首要环节，可从以下“三项原则、四项措施”正确应用于实践。三项原则：全面性原则；及时性原则；见证和记录原则。四项措施：强化案发现场的保护意识；确保现场勘验人员的专业素质；确保现场生物检材的发现和提取的装备到位；建立现场勘查人员的 DNA 质控库。

2　生物检材的保管和送检

生物检材的保管与送检应严格按照最新《法医生物检材的提取、保存、送检规范》（GA/T 1162—2014）的标准进行。在实践过程中，有以下几个方面值得注意：备份原则，即现场提取得生物检材要备份，一份用于鉴定，另一份用于专门的保管，由专门的保管人员负责管理，以备将来辩护方申请重新鉴定之用。环境安全原则，即生物检材的保管具有一定的环境安全条件，特别是近年来“百年物证”的提出，对生物检材的保管要求更加严格。生物检材送检主体和程序合法，我国现行的规章制度规定，必须有两人以上同时送检。实践中对于争议比较大的案件的检材，送检时必须有犯罪嫌疑人的代理人或者亲属同行，以体现程序公正。证据保管链完整性，即指所提取的检材从收集、提取直至被送到鉴定实验室期间的时间、地点、数量、标注等转移的信息链具备完整性，中途不得“断裂”和人为的调换。

3 生物检材的实验室检验

生物检材的实验室检验是法医 DNA 技术应用于司法实践的重要环节，可从 DNA 实验室建设标准和 DNA 技术检验标准两个方面正确应用于实践。实验室建设标准应符合《法庭科学 DNA 实验室建设规范》（GA/T 382-2014），同时实验室应通过法庭科学 DNA 实验室认可和资质认定。DNA 技术检验标准应遵循《法庭科学 DNA 实验室检验规范》（GA/T 383-2014），从方法原理、使用范围及要求、操作步骤、注意事项等方面形成作业指导书，规范所有技术人员的实验过程，同时制定严格的质量控制和监督程序。

4 DNA 检验结果和 DNA 数据库的应用

DNA 检验结果正确应用于司法实践可从以下三个方面注意：正确定位 DNA 结果在侦查、起诉、审判阶段的作用，不夸大，不迷信，不依赖；DNA 技术人员在积极宣传 DNA 技术的同时，也要向办案人员解释 DNA 检验结果的局限性；在公、检、法、司系统进 DNA 技术基础知识的培训，尤其是 DNA 检验结果的解读和应用。DNA 数据库正确应用于司法实践首先考虑的是 DNA 数据库的质量控制，参与建库的法医 DNA 实验室质量应严格控制，参与建库的各个地区使用共同的 DNA 标记和标准，使进入数据库的结果能够比对，标准化软件的实施，使各个实验室之间数据能够及时交换；其次，DNA 数据库的十大战法（同型比对直破法、复合亲缘关系比对法、少位点比对排查法、混合样本拆分比对法、快速直查比对法、Y-STR 排查法、线粒体 DNA 排查法、物证比对并案法、家系比对分析法、综合比对应用法）能够正确应用于司法实践。

【参考文献】

[1] 郑秀芬. 法医 DNA 分析 [M]. 北京：中国人民公安大学出版社，2002：24.
[2] 周维平. 诉讼法视野中的法医 DNA 证据研究 [J]. 证据科学，2009，17（4）：496-505.
[3] 陈水琴，刘书超，李琼. DNA 鉴定质量的影响因素和保证措施 [J]. 湖南警察学院学报，2012，24（5）：96-98.
[4] 侯一平. 法医物证学 [M]. 北京：人民卫生出版社，2016：263.
[5] 葛百川，彭建雄，刘冰. DNA 数据库实战应用战法体系与能力建设研究 [J]. 刑事技术，2016，41（4）：259-264.

尼龙膜套管技术在法医现场物证 DNA 提取中的研究应用

马　骏[1]，童　奇[2]，高良弼[1]，朱　川[1]，江志强[1]
（1. 浙江省长兴县公安司法鉴定中心，313100；
2. 浙江省安吉县公安司法鉴定中心，313300）

如何对脱落细胞检材进行 DNA 检验具有非常重要的意义，而面对与日俱增的检材，如何提高 DNA 提取效率又是一个新的难题。现场各种检材所处的环境较为复杂，DNA 的含量和质量良莠不齐，难免会吸附灰尘、泥土等固体杂质，这些对于 DNA 与载体的分离非常不利，甚至会对 DNA 提取产生影响。要提高微量 DNA 的检出率，不能仅局限于扩增、检测方法的改良，更应注重不同载体裂解提取时的人为损失和裂解液的收集。基于此，笔者将 0.45um 孔径的尼龙膜套管应用于现场检材 DNA 提取时的裂解，建立了高效、简便的新型固液 DNA 分离方法。

1 材料

1.1 实验检材

（1）9947A（ABI，USA）10ng/μL；

（2）现场检材来源于日常案件，烟蒂 100 份，拭子 100 份，衣物 30 份，指甲 50 份。

1.2 主要试剂耗材和仪器设备

尼龙膜套管 Spin Modules（Pulse，Canada）；1.5ml 离心管（ABI，USA）；提篮（NAO™ COPAN Italy）；硅膜试剂盒（Gene-EasyClean Forensic DNA Extraction Kit）（Pulse，Canada）；3500XL 型基因分析仪（ABI，USA）；金座 9700 型 PCR 扩增仪（ABI，USA）；5355 型恒温混匀仪（Eppendorf，Germany）；Identifiler Plus 扩增试剂盒（ABI，USA）。

2 方法

2.1 模拟检材制备

9947A（10ng/μL）吸取 10μL，吸附于植绒棉签，普通棉签、餐巾纸，纱布，编号 1、2、3、4，晾干待用，同时制备对照 DNA（9947A（10ng/μL）吸取 10μL 混合于 190μL 无菌水中）。

2.1.1 模拟检材处理

编号 1、2、3、4 号检材置于尼龙膜套管、提篮、1.5mL 离心管（2 份，1 份用于扎孔），编号为 A、B、C、D，A1—D4 共 16 份，每个中加入 200μL 无菌水，56℃置于恒温混匀仪 20min，1000rpm。A1-C4，12 份置于离心机（13000rpm，5min）得到模板 DNA；D1-D4 底部扎孔后套于新 1.5mL 离心管（10000rpm，5min）得到模板 DNA（共重复 4 次实验）。

2.1.2 PCR 扩增与扩增产物的检测分析

所有模板采用 Identifiler Plus 扩增试剂盒在 ABI 金座 9700 型 PCR 扩增仪上进行扩增，体系 10μL，产物采用 ABI-3500XL 型 DNA 基因分析仪电泳分离和激光扫描分析，采用 Gene-MapperID-X1.4 分析软件分析得到的 STR 分型。

2.2 案件检材处理

烟蒂、棉签拭子、衣物、指甲等 280 份检材取适量加入尼龙膜套管内管。尼龙膜套管包括内管和 2mL 外管，内管直径 8mm，长 2.5cm（最多加入 800μL 液体），底部为 0.45um 的尼龙膜，DNA 低吸附，无离心力下无渗漏。取适量检材放入内管，加入裂解液、蛋白酶 K、DTT 等，56℃置于恒温混匀仪孵育 40min，1000rpm（指甲 56℃孵育 2h，800rpm），利用尼龙膜 0.45um 孔径的限制，将检材过滤拦截，含 DNA 的裂解液进入外套管。

2.2.2 案件检材 DNA 的提取

使用商业化 DNA 提取试剂盒提取。将尼龙膜套管离心后的液体转移至硅膜吸附柱，DNA 纯化方法按照试剂盒操作说明进行。

2.2.3 案件检材 DNA 的扩增与扩增产物的检测分析

DNA 模板采用 Identifiler Plus 扩增试剂盒在 ABI 金座 9700 型 PCR 扩增仪上进行扩增，体系 10μL，产物采用 ABI-3500XL 型 DNA 基因分析仪电泳分离和激光扫描分析，采用 Gene-MapperID-X1.4 分析软件分析得到的 STR 分型。

3 结果

模拟检材中，尼龙膜套管分离技术分离的检材均获得了理想的 STR 分型，植绒棉签的洗脱明显优于普通棉签、餐巾纸和纱布，DNA 损失最少，分型的 RFU 值均在 7000~28000，杂合子均衡性好，与对照 DNA 结果相当（见表 1）。

表 1　模拟检材实验结果

载体类型	数量（份）	实验重复（次）	离心后溶液状态及 STR 分型结果				
			尼龙膜套管	提篮管	1.5mL 离心管	1.5mL 离心管（扎孔、套管）	对照 DNA
植绒棉签	8	4	液体纯净无杂质，杂合子峰高均衡，最低峰平均 RFU 值处于 7000，最高峰平均 RFU 值处于 26000	液体纯净，管低有少许植绒，杂合子峰高均衡，最低峰平均 RFU 值处于 5000，最高峰平均 RFU 值处于 12000	液体纯净，管低有少许植绒，杂合子峰高均衡，最低峰平均 RFU 值处于 2000，最高峰平均 RFU 值处于 7000	液体纯净，管低有少许植绒，杂合子峰高均衡，最低峰平均 RFU 值处于 5000，最高峰平均 RFU 值处于 12000	杂合子峰高均衡，最低峰平均 RFU 值处于 8000，最高峰平均 RFU 值处于 30000
普通棉签	8	4	液体纯净无杂质，杂合子峰高基本均衡，最低峰平均 RFU 值处于 4000，最高峰平均 RFU 值处于 15000	液体微浑，管低有棉签纤维，杂合子峰高基本均衡，最低峰平均 RFU 值处于 4000，最高峰平均 RFU 值处于 9000	液体纯净，杂合子峰高基本均衡，最低峰平均 RFU 值处于 900，最高峰平均 RFU 值处于 2000	液体纯净，管低有棉签纤维，杂合子峰高基本均衡，最低峰平均 RFU 值处于 5000，最高峰平均 RFU 值处于 10000	
餐巾纸	8	4	液体纯净无杂质，杂合子峰高均衡，最低峰平均 RFU 值处于 4000，最高峰平均 RFU 值处于 12000	液体微浑，管低有纸巾纤维，杂合子有 2-3 个位点出现不均衡，最低峰平均 RFU 值处于 1000，最高峰平均 RFU 值处于 4000	液体浑浊，部分杂合子峰高不均衡，有丢峰的现象，最低峰平均 RFU 值处于 500，最高峰平均 RFU 值处于 1200	液体微浑，管低有较多纸巾纤维，杂合子有 3-4 个位点出现不均衡，最低峰平均 RFU 值处于 1000，最高峰平均 RFU 值处于 2000	杂合子峰高均衡，最低峰平均 RFU 值处于 8000，最高峰平均 RFU 值处于 30000
纱布	8	4	液体纯净无杂质，杂合子峰高均衡，最低峰平均 RFU 值处于 5000，最高峰平均 RFU 值处于 16000	液体微浑，管低有纱绒，杂合子峰高基本均衡，最低峰平均 RFU 值处于 3000，最高峰平均 RFU 值处于 9000	液体浑浊，杂合子峰高基本均衡，最低峰平均 RFU 值处于 1600，最高峰平均 RFU 值处于 5000	液体微浑，管低有纱绒，杂合子峰高基本均衡，最低峰平均 RFU 值处于 3000，最高峰平均 RFU 值处于 8000	

表 2　案件现场检材实验结果

检材名称	检材类型	数量（份）	离心后溶液状态及 STR 分型结果
烟蒂	案件现场提取，各品牌	100	液体纯净无固体杂质，5 个烟蒂过于陈旧、水中浸泡等条件差异，无 STR 分型，其余均检出 DNA 分型
棉签拭子	主要是植绒拭子对现场可疑斑迹、指纹、掌纹、案犯使用过工具和水瓶等的擦拭	100	液体纯净无固体杂质，部分会有现场提取时吸取的颜色；STR 结果根据检材的自身条件

续表

检材名称	检材类型	数量（份）	离心后溶液状态及 STR 分型结果
衣物	外套、内衣等	30	液体纯净无固体杂质，颜色随衣物的颜色；STR 分型随检材条件
指甲	非正常死亡尸体指甲	50	液体纯净无固体杂质；均检出死者 STR 完整分型

280 份各类型检材均获得了纯净、单一无固体杂质的流质液体，可直接用于 DNA 纯化。因检材自身原因，检出有一定差异：5 个烟蒂过于陈旧、水中浸泡过，无 STR 分型，其余均得到完整 STR 分型；植绒拭子检出率在 63.5%；衣物检出率 83.6%；指甲全部得到完整 STR 分型。

4　讨论

DNA 检验技术已成为刑事技术中科技含量最高、实用性最强的方法之一，得到了司法机关的普遍采信。现场提取的检材载体类型较为复杂，许多非传统类型的生物物证不断进入法庭科学领域。因此，本文在大量现场检材如何高效率提取 DNA 进行相关研究，将 0.45um 孔径的尼龙膜套管技术应用于提取步骤。

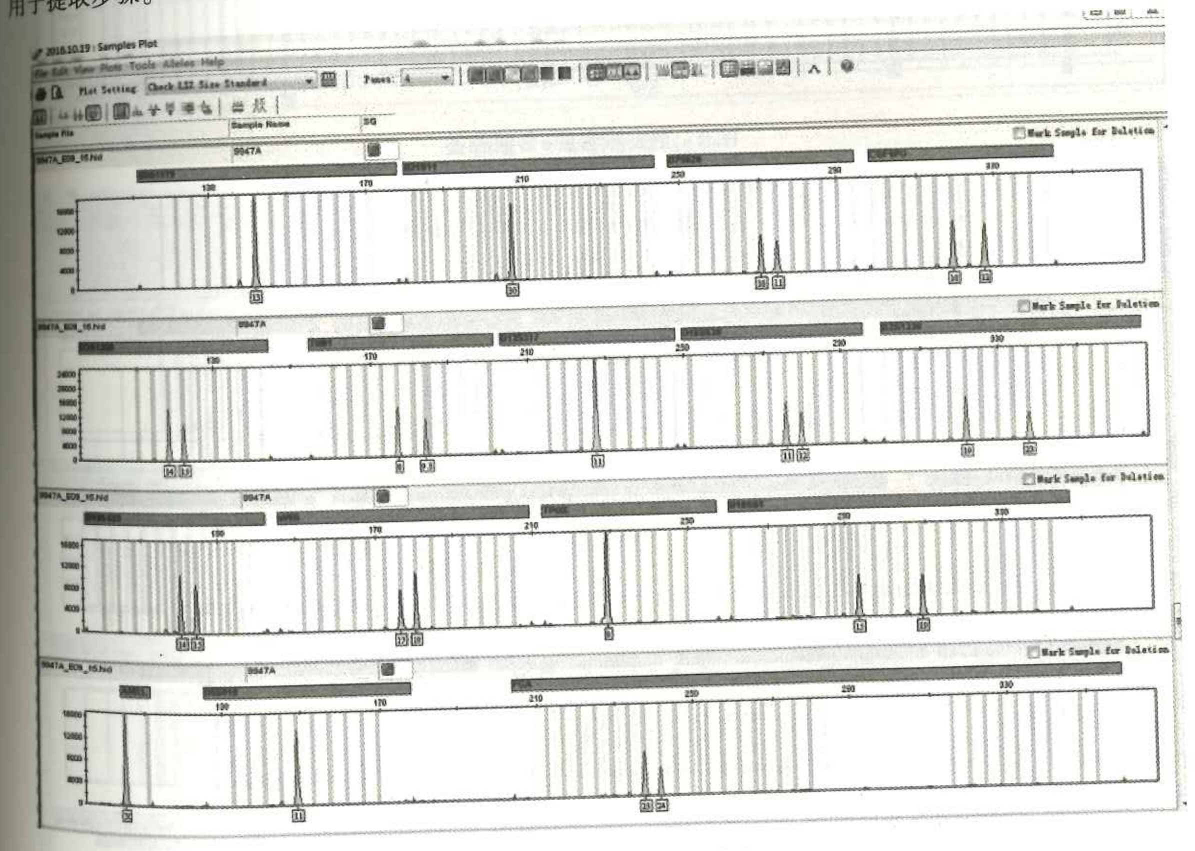


图 1　尼龙膜套管+植绒棉签

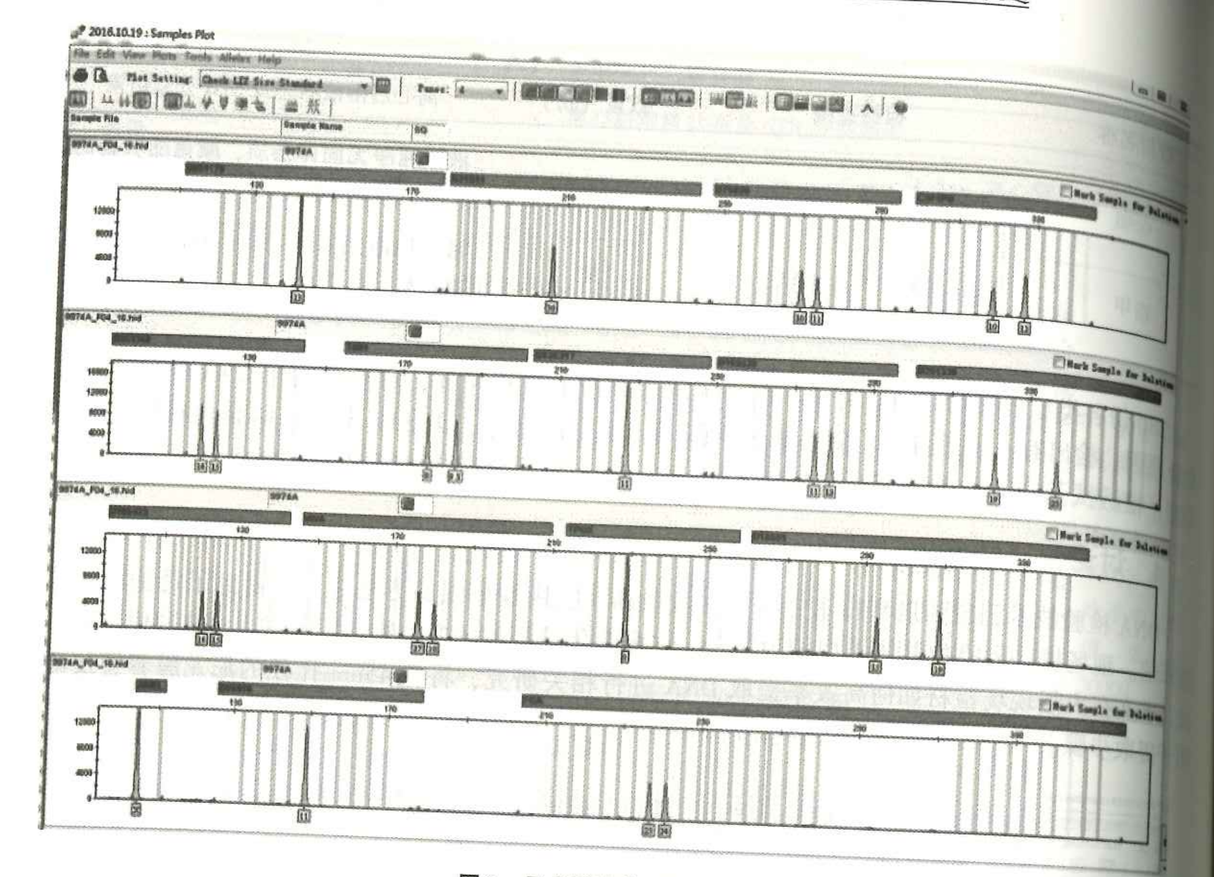


图2 尼龙膜套管+普通棉签

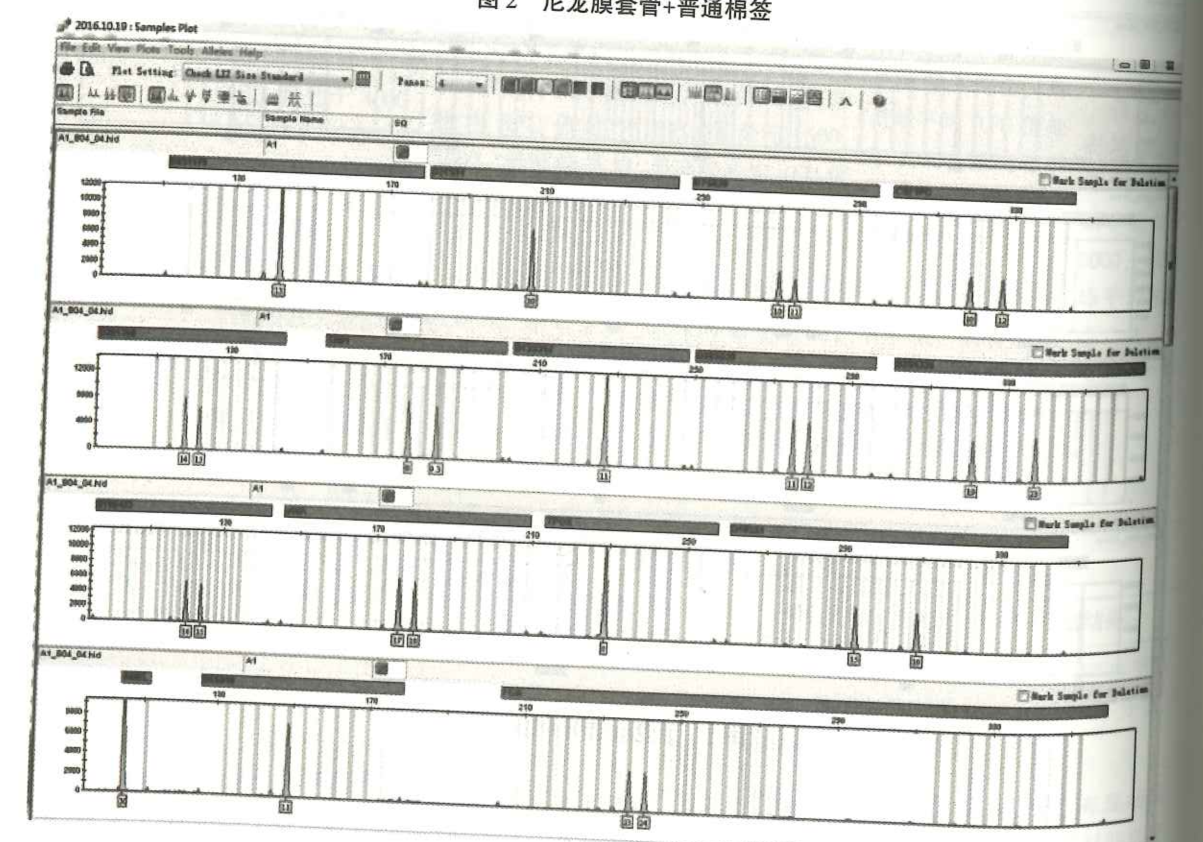


图3 尼龙膜套管+餐巾纸

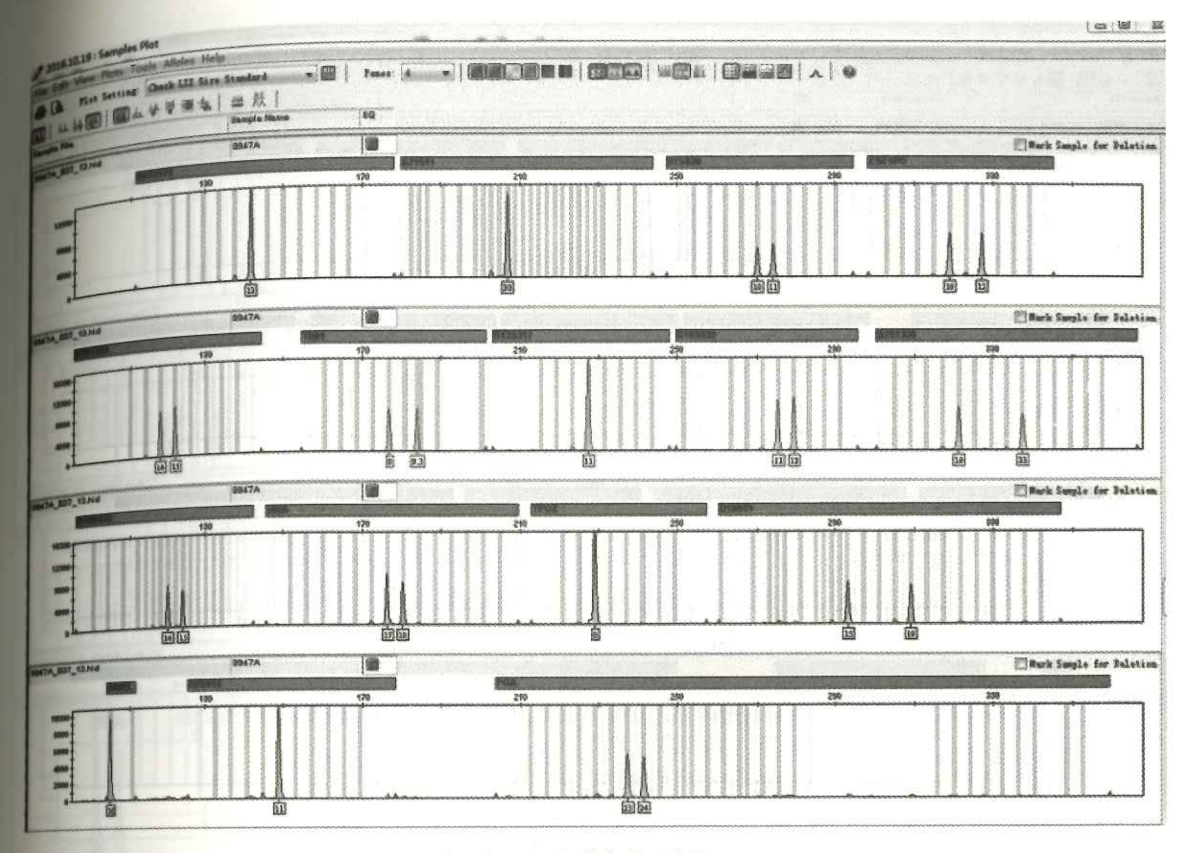


图4 尼龙膜套管+纱布

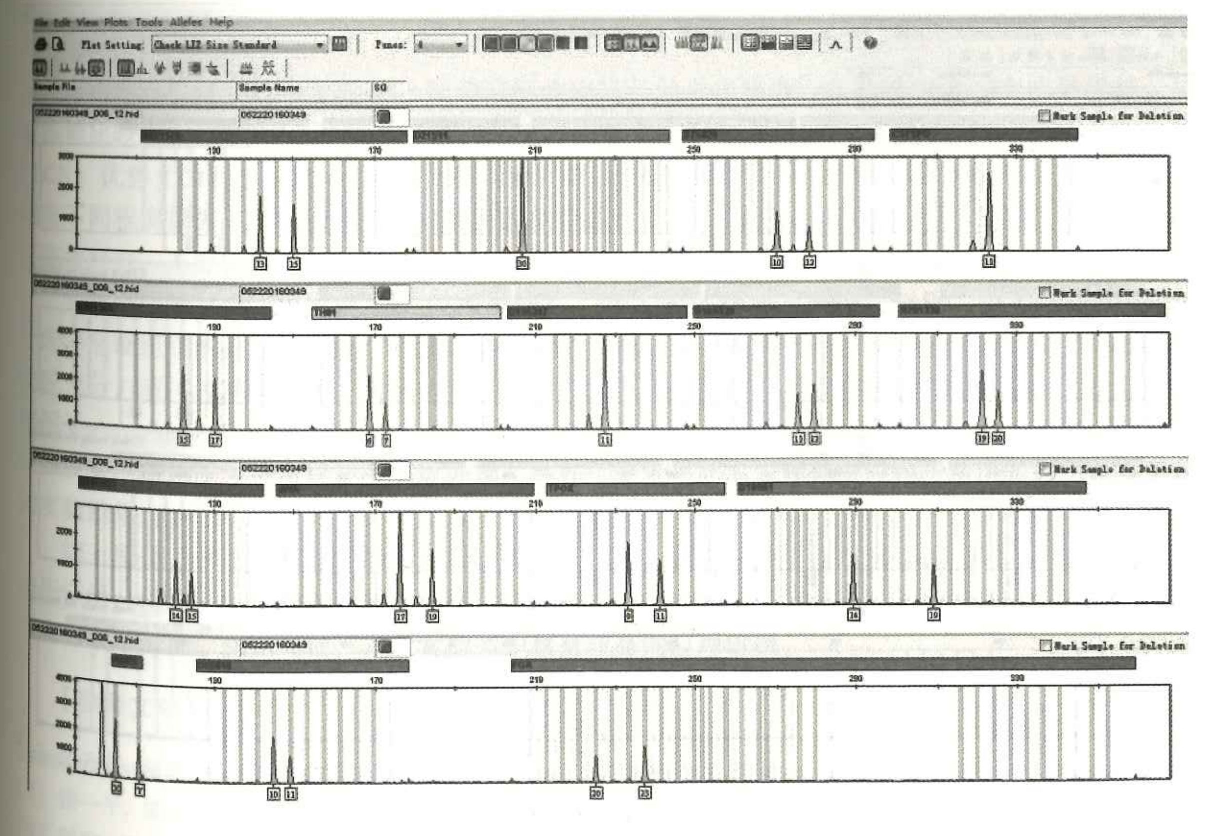


图5 尼龙膜套管+现场菜刀

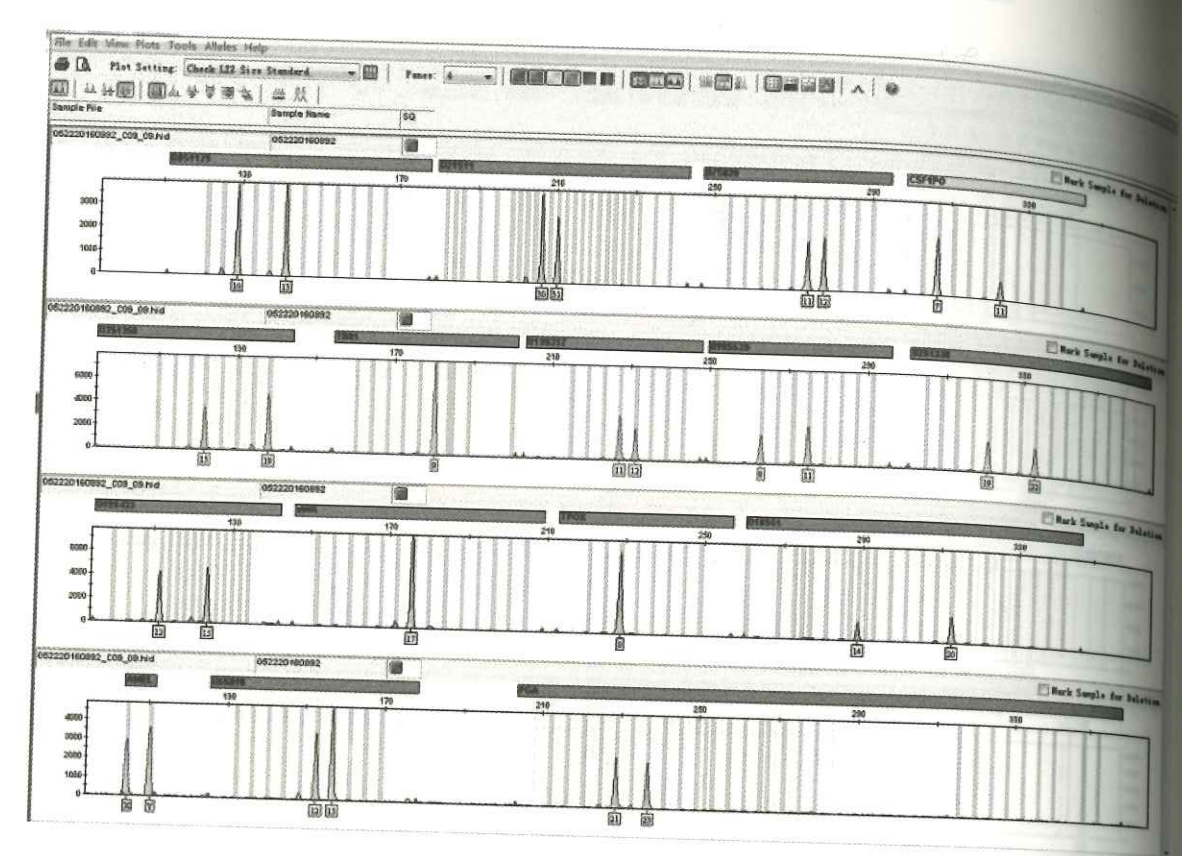


图 6　尼龙膜套管+现场指纹擦拭

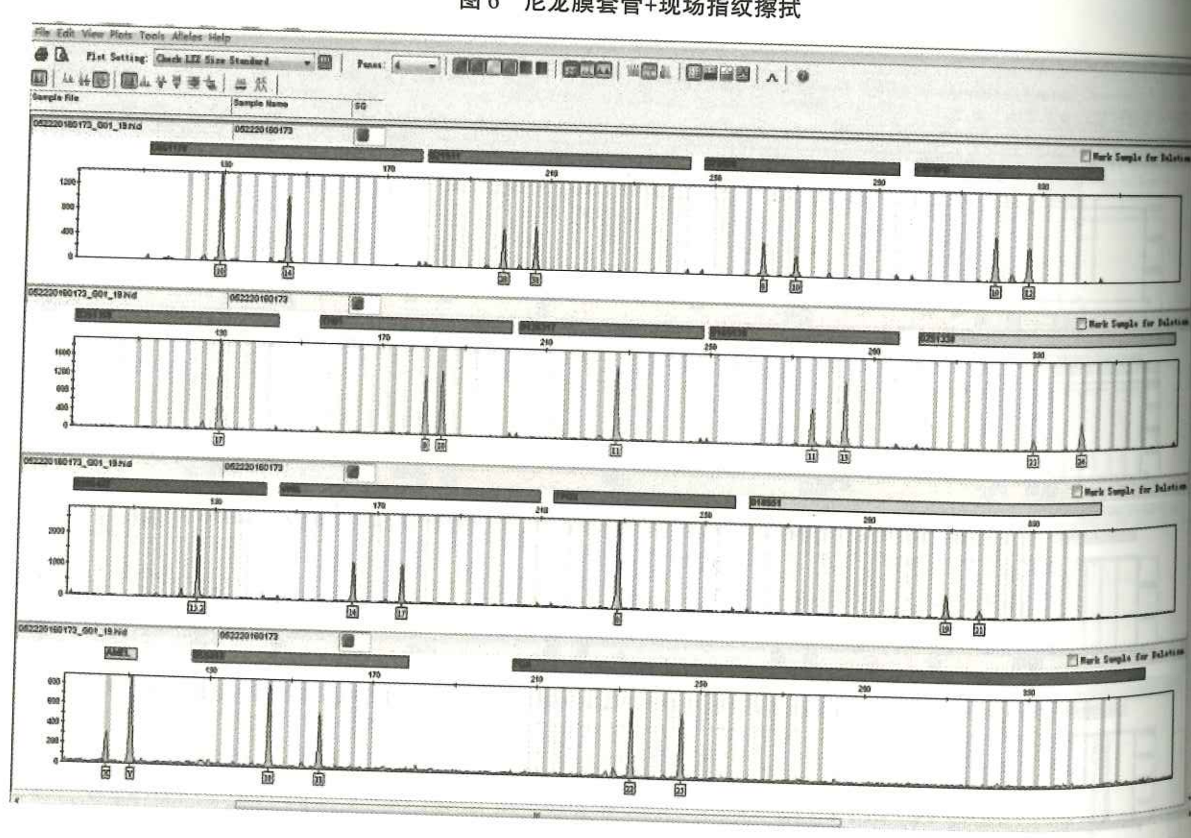


图 7　尼龙膜套管+现场袜子

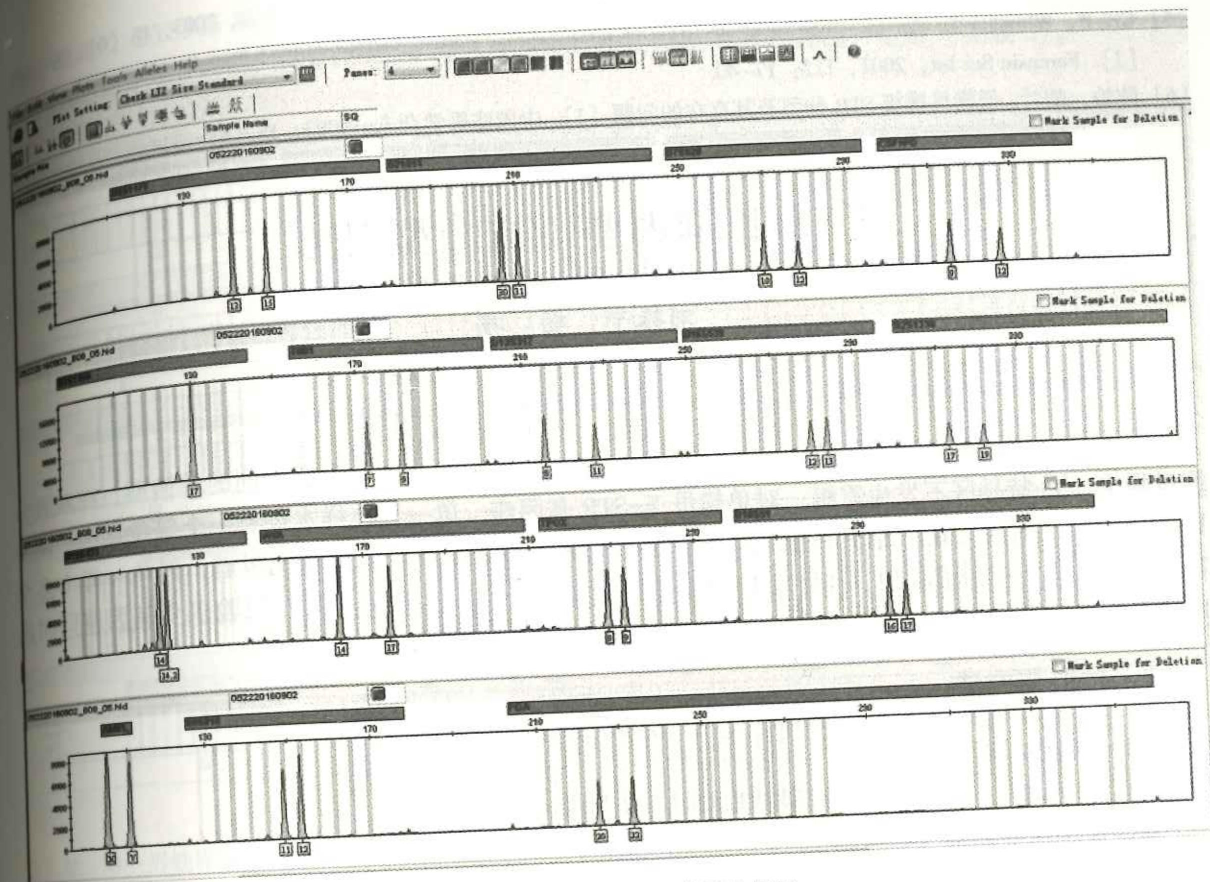


图 8　尼龙膜套管+非正常尸体指甲

模拟现场检材实验中发现：1. 裂解液回收率高，较常规吸取、扎孔套管方法有明显优势；与现有提篮比较，回收率提高了 30%且得到的液体纯净无固体杂质。2. 现场检材中的低拷贝模板 DNA（LCN）优势尤为明显，DNA 吸附极低，相等 DNA 浓度的载体中，植绒棉签回收率最高，其余载体均有不同程度损失。因植绒棉签材料与结构的特殊性，采样时更大程度吸附脱落细胞，裂解消化时也可高效释放，不滞留微量 DNA。

实际案件检材应用中发现：1. 应用范围广，除了上述烟蒂、衣物、指甲，笔者还应用于骨骼、牙齿等坚硬组织的处理，可放入更多载体，操作方便，得到的裂解液纯净无固体杂质。2. 检材载体洗脱充分，液体纯净无杂质，无须转管，降低了因毛细管作用吸收裂解液导致 DNA 损失发生，可直接用于 Auto Mate 等自动化工作站；3. 操作简便，对操作人员要求低，降低了污染的风险，无须特殊仪器设备，适用于大批量检材的提取处理。另外，笔者将此尼龙膜套管应用于精斑实验，获得了理想的实验结果。

综上所述，本文研究建立的尼龙膜套管分离技术，完全适用于法医现场物证 DNA 的提取，检材应用广泛，得到的液体纯净无固体杂质，减少了 DNA 的损失，大大提高了 DNA 提取的效率，整个提取实验成本低廉、快速简便，在日常检案中具有较高的应用价值。

【参考文献】

[1] 郑秀芬. 法医 DNA 分析［M］. 北京：中国人民公安大学出版社. 2002：37-59.
[2] 侯一平. 法医物证学［M］. 北京：人民卫生出版社. 2009：127-142.
[3] 裴黎. 现代 DNA 分析技术理论与方法［M］. 北京：中国人民公安大学出版社. 2002：125-126.

[4] 吴微微，郑小婷，郝宏蕾. 特殊载体微量生物检材 DNA 检验 2 例 [J]. 中国法医学杂志，2003，18（6）：444-445.
[5] Gill P，Whitaker J.. An investigation of the rigor of interpretation rules for STRs derived from less than 100pg of DNA [J]. Forensic Sci Int，2001，112：17-40.
[6] 陈松，胡兰. 低拷贝模板 STR 分型及其存在的问题 [J]. 中国法医学杂志，2003，18（5）：314.

Y-STR 基因座特殊分型现象

刘振平，杨　扬
（浙江省金华市公安局物证鉴定中心，321000）

人类 Y 染色体属近端着丝粒染色体，长度约 60Mb，同一父系个体具有相同的单倍型，在减数分裂过程中，Y-特异区不发生重组。对单拷贝 Y-STR 基因座，单一男性样本仅有一个等位基因，随着 Y-STR 的广泛应用，越来越多的基因座上有两个或两个以上等位基因的情况报道，但单一样本多个基因座检出两条带报道较少，作者在日常检案中一样本 Y-filer™ Plus 试剂盒检验多个基因座同时出现两个等位基因的情况，现予以报道，希望在法医学实践中引起重视。

1　材料与方法

1.1　实验材料

1.1.1　样本

案件现场物证样本（唾液斑）。

1.1.2　主要仪器与试剂

主要仪器：AB9700 型扩增仪，3130XL 型遗传分析仪；试剂：采用 Y-filer™ Plus 扩增试剂盒（Applied Biosystems™）。

1.2　实验方法

1.2.1　模板 DNA 的制备

采用 Chelex-100 法进行常规提取。

1.2.2　复合扩增及产物的分离与检测

采用 Y-filer™ Plus 试剂盒进行 PCR 扩增，体系的体积为 25μL，其中引物 5μL，PCR 反应缓冲液 10μL，模板 DNA2μL，超纯水补足体系。热循环参数为：95℃ 11min；94℃ 4s，61℃ 1min，25 个循环；60℃ 22min；4℃ 保温。扩增结束后，用 ABI3130XL 型遗传分析仪进行毛细管电泳，用 GeneMapper ID-X 1.4 软件进行数据分析，以等位基因分型标准物为标准进行基因型分型。

1.2.3　对 DYS635、DYS389 Ⅱ 基因座进行测序

分别用 DYS389 和 DYS635 引物（引物序列见表 1）扩增样本，用琼脂糖凝胶电泳验证正确的扩增产物后进行纯化，TA 克隆（试剂盒 lpMD18-T，TaKaRa 公司），挑单克隆菌落放大培养，使用 AGCU Y24 试剂盒（无锡中德美联生物技术有限公司）行菌液 PCR，毛细管电泳验证正确，将含有目的等位基因的克隆送上海生工测序。

2　结果

Y-filer™ Plus 扩增结果，共 4 个基因座检出两条谱带，DYS635 基因型为 20/21、DYS389 Ⅱ 基因

型为 28/29、DYS385 基因型为 13/19、DYF387S1 基因型为 35/39，检测图谱（见图 1）。

测序结果与 DYS635 和 DYS389 Ⅱ 两个基因座等位基因结构进行对比，结果（见表 2）。

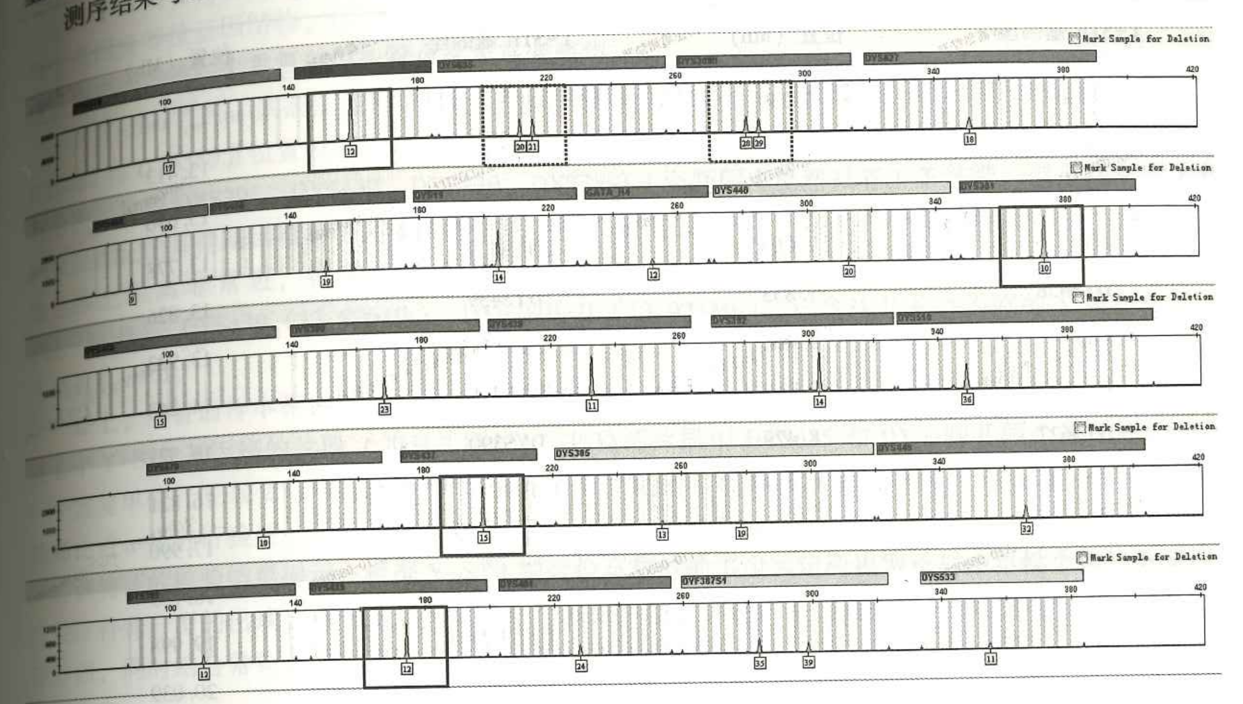


图 1　样本 Y-filer™ Plus 试剂盒扩增结果

注：单一男性样本 Y-STR 分型结果中在单拷贝基因座 DYS635、DYS389 Ⅱ 出现两条谱带（虚线框内所示），DYS389 Ⅰ、DYS391、DYS437 和 DYS439 四个基因座出现峰高为相同荧光标记的其他基因座 2 倍或 2 倍以上（实线框内所示）。

表 1　DYS635 和 DYS389 Ⅱ 引物序列

基因座		引物序列（5′→3′）
DYS389	FP	5′-CAGCAGGTTCTCCGCTACAG-3′
	RP	5′-GATGCTCCTGGCATCTAGTG-3′
DYS635	FP	5′-GCCAACATGGTGAAATCCTAT-3′
	RP	5′-CAGGTTGCTGCAAATGACATC-3′

表 2　该样本 DYS635 和 DYS389 Ⅱ 核心序列

基因座	等位基因	核心序列
DYS635	20	[TCAT] 4 [TGAT] 2 [TCAT] 2 [TGAT] 2 [TCAT] 10
DYS635	21	[TCAT] 4 [TGAT] 2 [TCAT] 2 [TGAT] 2 [TCAT] 11
DYS389 Ⅱ	28	[TCTG] 4 [TCTA] 12 [TCTG] 3 [TCTA] 9
DYS389 Ⅱ	29	[TCTG] 4 [TCTA] 13 [TCTG] 3 [TCTA] 9

表 3　25 个 Y-STR 基因座在 Y 染色体上位置

短臂		长臂	
Y-STR 基因座	位置（Mb）	Y-STR 基因座	位置（Mb）
DYS393	3.039	着丝粒	
DYS456	4.236	DYS391	13.413
DYS570	6.905	DYS635	13.690
DYS576	7.096	DYS437	13.778
DYS458	7.833	DYS439	13.826
DYS449	8.261	DYS389 Ⅰ/Ⅱ	13.923
DYS481	8.340	DYS438	14.248
DYS627	8.429	DYS390	16.521
DYS19	9.437	DYS533	16.831
		GATA_ H4	17.990
		DYS518	18.735
		DYS385a	19.998
		DYS385b	20.039
		DYS460	20.247
		DYS392	21.780
		DYS448	23.511
		DYF387S1	27.440/29.661

注：实线框内的 DYS635、DYS389 Ⅱ（出现两条谱带）以及 DYS389 Ⅰ、DYS391、DYS437、DYS439（峰高显著高于相同荧光标记的其他基因座）六个基因座在染色体位置上距离非常近。

3　讨论

人类 Y 染色体是正常男性拥有而女性没有的性染色体，具有单倍体连锁遗传及父系遗传的特点，Y-STR 是存在于人类 Y 染色体男性特异区（male-specific region）上的短串联重复序列。在法医实践中，单拷贝 Y 染色体 STR 位点为一条扩增带，根据扩增位点的带数的多少，可以确定所提取检材中男性个体的数量。而多拷贝 Y-STR 基因座，每个男性可有一到多个等位基因，且分型结果中单峰和多峰间呈明显的剂量效应关系。

本案件中物证使用 Y-filer™ Plus 试剂盒检测，DYS635、DYS389 Ⅱ、DYS385、DYF387S1 4 个基因座分别出现 2 条谱带，其中，DYS385 基因座为四核苷酸 STR 序列，引物有两个结合部位，故该基因座存在 a 和 b 两个拷贝，产生相应两个片段长度的扩增产物，拷贝数相同时表现为一条带，拷贝数不同时表现为两条带；DYF387S1 是 Y-filer™ Plus 复合扩增试剂盒在常用位点基础上新增的第六色荧光标记位点，其一对引物在 Y 染色体上有两个结合位点，可以扩增出两组片段大小有交叉的 PCR 产物，因此也会出现两条带的情况。DYS635 和 DYS389 Ⅱ 基因座通常情况下为一条带，但该物证同时出现了两条带且峰高和峰面积比例均约为 1∶1，根据以往经验，该样本成分可能为两名男性 DNA 混合形成、或者模板存在污染等情况，因此作者又对该样本使用 GlobalFiler 扩增试剂盒进行常染色体 STR 检验，结果检出单一男子 DNA 分型，排除了混合样本、污染的可能；再次使用无锡中德美联公

司 AGCU Y24 试剂盒对相同基因座进行验证，结果一致。

为了继续确认 DYS635 和 DYS389 Ⅱ 出现两条谱带的原因，对该样本进行了测序（见表 2）。对比两个基因座等位基因结构，DYS635 分别为等位基因 20、21，DYS389 Ⅱ 分别为等位基因 28、29，等位基因之间均差一个重复单位，符合逐步突变模型。

对 Y-filer™ Plus 试剂盒包含的 25 个基因座在 Y 染色体上的物理位置进行排序（见表 3），发现 DYS635 与 DYS389 Ⅱ 位置较为接近，仅相隔不到 0.3Mb。再对这两个基因座之间以及邻近的基因座进行分析，发现 DYS391、DYS437、DYS439、DYS389I 4 个基因座虽然只有 1 条谱带，但是峰高度为相同荧光标记的其他基因座单峰高度的 2 倍或 2 倍以上（见图 1）。以上 6 个基因座（如表 2 所示）Y 染色体上距离非常近，物理位置分别为 DYS391（13.413Mb）、DYS635（13.690Mb）、DYS437（13.778Mb）、DYS439（13.826Mb）、DYS389I/II（13.923Mb），包含这几种基因座的 Y 染色体总长不超过 0.6Mb。

综上，与普通样本相比，分析该样本出现特殊分型的原因可能是 Y 染色体上增加了至少包含上述 6 个 Y-STR 基因座的片段（如表 3 所示），并且两片段中 DYS635 和 DYS389 Ⅱ 两个基因座的相差一个重复单位（见表 2），如证实分析结论需全基因组测序或者增加该区域内外的基因座数量，观察峰高比进一步进行验证。

该物证的检验结果提示，根据 Y-STR 扩增位点带数的多少判定所提取检材中男性个体的数量时，应关注特殊分型的出现，结合出现异常分型的基因座数目、基因座物理位置、等位基因重复单位数目等方面，同时结合常染色体基因座系统的检验结果进行综合分析，进而做出正确判断，为案件的侦破提供方向。

【参考文献】

[1] 黄雅燕，张毅，张晓红. DYS385 基因座检出三带型等位基因三例［J］. 广东公安科技，2007（2）：73-74.
[2] 吴微微，苏艳佳，章申锋，等. Y-STR 基因座的特殊分型现象［J］. 法医学杂志，2008，24（5）：355-360.
[3] Butler J. M.，Decker A. E.，Kline M. C. et al.. Chromosomal Duplications Along the Y-Chromosome and Their Potential Impact on Y-STR Interpretation［J］. J Forensic Sci，2005，50（4）：853-859.
[4] 李爱强，宋金平，张艳霞，等. Y 染色体 STR 检验技术在侦查破案中的应用［J］. 中国法医学杂志，2006，21（增）：17.
[5] 侯一平. 法医物证学［M］，北京：人民卫生出版社：2009：117-119.
[6] 周雪，王鑫，杨俊. DYF387S1 基因座检出三等位基因 1 例［J］. 中国法医学杂志，2016 第 31 卷第 5 期.
[7] Ellegren H.. Heterogeneous mutation processes in human microsatellite DNA sequences［J］. Nature Genetics，2000，24（4）：400-402.

接触性生物检材现场提取方法的研究

姜卸印，刘振平
（浙江省金华市公安司法鉴定中心，321000）

随着犯罪分子对 DNA 技术了解的广度和深度不断扩大，遗留在现场上的常规物证越来越少，因而微量接触性生物检材越来越受到现场勘查人员的关注，现场提取量和送检量逐年增多，加强现场微量接触性生物检材提取的研究在当前显得尤为重要。

1 现场接触性生物检材的特点

遗留客体的多样性。由于犯罪现场环境的差异性，接触性生物检材遗留在现场的客体多种多样，有渗透性客体和非渗透性客体，光滑客体和粗糙客体，日常不确定人员接触的客体和相对固定人员接触的客体等。客体材质不同以及表面性状不同，直接影响到遗留其表面的接触性生物检材的提取。

接触部位的不确定性。接触性生物检材往往以微量和肉眼不可见的形态存在，因此，在现场上我们很难确定其遗留在现场客体上的具体部位，而遗留部位的不确定性对我们提取的准确性、有效性造成了一定的影响。

遗留检材的微量性。接触性生物检材主要是通过皮肤或黏膜接触现场客体而留下的部分脱落细胞，在现场接触的时间往往是短暂的，因而其留下的量往往是非常微量的。

遗留检材的易污染性。承痕客体大多本身存在于现场，案犯接触后留下的生物检材往往与案前或案后其他无关人员留下生物检材相混杂，提取时易受到干扰。

遗留检材的易衰减性。案犯作案后至案件被发现往往相距一段时间，生物检材遗留时间的延长，加上温度、湿度、粉尘等现场环境影响，易造成现场生物检材的衰减或损失。

2 影响接触性生物检材提取的因素分析

提取人对现场接触性生物检材的理解程度。要提取的是什么样的检材？可能留在什么部位？是什么情况下留下来的？这是每一个现场勘查人员在动手之前必须要考虑的问题，这样，他才能有针对性地采取适当的方法提取，从而保证其较高的提取成功率。

生物检材遗留时间的影响。生物检材遗留至被提取检验的时间长短直接影响提取成功率。Raymond 等研究了已知量的 DNA 在三种不同的载体表面（木材、聚乙烯化合物、玻璃）上的遗留时间，结果显示，可以回收到的接触 DNA 随着时间的推移显著减少，两周以后基本上不能够再被检出；接触 DNA 在渗透性载体上的遗留时间要长于非渗透性载体。

生物检材遗留环境的影响。现场环境的温度、湿度，封闭环境还是开放环境，阳光照射还是阴凉环境，都对现场遗留的接触性生物检材留存时间有影响。

提取方法的影响。不同类型的检材和不同的承痕客体要选用不同的方法，如选用不同的转移工具、转移方式、擦拭力度等。

保管方法的影响。罗卡定律指出“凡两个物体接触，必定产生转移现象”。据实验研究，保存在物证袋中的检材 100%会发生 DNA 转移或丢失，其转移率在不同类型的物证袋之间存在差别，纸质物证袋转移率达到 26.27%，塑料物证袋转移率达到 17.85%，纸质物证袋的转移率高于塑料物证袋；生物检材悬空放置在有干燥剂的套管比医用棉签采集纸袋保存方式获得的 DNA 量显著提高。

3 常见现场接触性生物检材提取方法及注意问题

手印、赤脚印上生物检材的提取。人体脱落细胞直接隐含在形成手印、赤脚印的灰汗物质中，或者直接黏附在具有一定黏附能力的立体手印、赤脚印表面。

提取注意问题：灰汗加层手印、赤脚印采用棉签干湿两步法擦拭提取。对立体手印、赤脚印，可采用湿棉签黏附法提取，或采作脱落细胞提取仪进行吸附提取。提取时应尽量对准痕迹，不宜扩大范围，不同部位的检材不应合并提取，以免检出混合 DNA 分型谱带。

手套印、袜印上生物检材的提取。手套上、袜子上 DNA 的来源，主要是案犯在随身携带、穿用手套和袜子过程中因为接触到身体裸露部位或者接触到富含案犯脱落细胞的物品等发生的体表脱落细

胞的转移。作案过程中，当案犯戴手套使用较大力气攀爬或反复按压时，手套上、袜子上黏附的脱落细胞则可能转移到印痕上。

提取注意问题：犯罪现场手套印、袜印的转移提取主要采用两步擦拭转移法，在转移时需要特别注意操作手法。首先，棉签的湿度要适中，避免过分湿润；其次，在擦拭时注意避免来回搓动，应往一个方向擦拭收集；再次，擦拭时用力要适中，太轻或太重均可能导致转移效率的降低，力度以棉签轻度弯曲为宜；最后，擦拭的范围不可过大，主要集中在手套印、袜印印痕范围内。需要指出的是，手套印、袜印 DNA 来源是二次转移，所以，在有多个手套印、袜印出现的时候应尽可能选取较为新鲜、嫌疑人初始接触及反复摩擦的部位。

身体表皮脱落细胞的提取。案犯在作案过程中有时出现跳跃、摔倒等动作，造成身体上部分表皮细胞直接脱落于现场，甩动动作致使身体上的汗液、血迹脱落于现场。

提取注意问题：分析动作及相关痕迹，在跳跃、摔落落地部位一定范围采用吸附方法提取。分析痕迹与痕迹之间相互关系找准甩动脱落痕迹位置，采用适当方法提取。

唾液斑生物检材的提取。案犯在现场有吃、喝、吸、吻等接触动作而将脱落细胞遗留在客体上，有时直接将口中的痰、唾液、血水等吐落在现场上。

提取注意问题：纺织品载体上唾液类检材，提取时应找准可疑斑迹遗留的部位，剪取送检。水果上唾液斑迹，含汁类较多的如西瓜类，宜结合咬痕部位采用两步法转移，晾干送检；苹果、梨等汁类不是特别丰富的检材采用两步法转移提取，同时将原物送检。对于女性尸体口唇、乳房部位一般采用干湿棉签两步擦拭法提取，并注意采集力度；尽可能在尸体原始体位情况下提取；条件允许时，应结合光源仔细查看口唇、乳房部位唾液斑遗留的面积。

接触性动作遗留生物检材的提取。案犯在作案过程中产生握、推、抱、拖等动作，擦、碰、触、摸现场客体，把手上、身体上部分脱落细胞转移到现场接触的客体上。特别是某些案件受现场空间条件限制，案犯身体极易与现场客体发生接触，如夏天案犯衣着单薄，与被害人搏斗或爬钻狭窄处，身体易与墙壁或通道边缘接触而留下生物检材。

提取注意问题：

门把手、工具的把持处接触性生物检材的提取。光滑客体如塑料、玻璃、油漆面用擦拭法提取，粗糙客体如铁、木、砖块、石头则用黏附、吸附方法提取，对较大件物品要注意分区域分段提取，以免交叉污染。

衣服上接触性生物检材的提取。分析接触动作，找准位置，采作吸附或直接剪取方法提取。绳子、胶带，一般用剪取方法直接剪取接触时间较长的两端或打结处。

受害人皮肤上接触性生物检材的提取。卡捂动作接触的口唇、鼻子、颈部，拖拉接触的手臂、脚踝部位，一般采用棉签擦拭，由于易与被害人 DNA 混合，所以擦拭时不能太重，提取面也不宜太大。

墙壁上接触性生物检材的提取。光滑客体可打侧光观察墙面确定具体的擦蹭部位，根据客体光滑程度采用棉签擦拭或粘取方法提取。某些柔软粗糙墙体可用脱落细胞提取仪进行吸附提取。对一些硬质粗糙墙体，可采用吸附法或粘取法提取。对较大面积的接触表面可用画网格方法分块提取。

窗、洞口接触性生物检材的提取。洞口较粗糙、锋锐，身体爬过或手伸过，易接触洞口边沿留下生物检材，由于这些部位本身较粗糙，因此，一般采用粘取法或吸附法提取，如洞口较光滑，则用棉签擦拭法提取。

【参考文献】

[1] Raymond J. J.. Trace evidence characteristics of DNA: A preliminary investigation of the persistence of DNA at crime

scenes [J]. Forensic Sci Int Genet, 2009 (4): 26-33.
[2] 董会，王晶，秦翠娇，等. 物证袋保存生物检材产生 DNA 转移问题研究 [J]. 刑事技术，2016 (3): 174-175.
[3] 杨电，刘超，李越，等. 生物检材采集与保存套管的应用 [J]. 中国法医学杂志，2014，24 (4): 352-354.

应用酚-氯抽提对特殊生物检材处理的效果观察

张 科[1]，高青华[2]
(1. 安徽省公安厅物证鉴定管理处，236001；2. 安徽省巢湖市公安局，238000)

传统的有机法提取 DNA 采用的步骤是酚、氯仿交替抽提，使蛋白质变性并有去除蛋白质、色素等杂质，进而获得较多的大片段 DNA，然而由于步骤多，耗时长、回收率低等因素而被各类新方法所代替。但其方法经典，本文尝试取其酚-氯抽提步骤，同时结合硅膜法进行浓缩，对收集的多起特殊疑难检材进行提取，通过观察发现其对含有染料，铁锈、腐殖质、油脂等抑制物的检材或严重降解的生物检材，能获得较满意的结果。

1 检验

1.1 样本

样本为本实验室收集的铁棍一根、牛仔裤一条、长骨一根等。其中铁棍打击端因丢弃环境潮湿发现时已锈蚀且附着大量泥土，肉眼可见片状褐色斑迹；牛仔裤衬垫在腐败尸体下面，其上附着点状可疑斑迹；长骨为白骨化尸体上所取。

1.2 检验过程

初次提取采用干湿两步法取铁棍打击端可疑部位擦拭物一份，联苯胺试验为阳性，Fob 确证阳性，标记为 TG1，以 200μL ATL+10μLPK（20mg/ml）进行消化 2h；剪取牛仔裤可疑部位斑迹一份，联苯胺试验为阳性，Fob 确证阳性，置于 10ml 管内浸泡振荡离心，取沉淀标记为 KZ1，以 200μL ATL+10μL PK（20mg/ml）进行消化 2h；取长骨骺端松质约 1.5g，标记为 CG1，以 200μL EDTA+100μL 骨骼孵育液+10μLPK（20mg/ml）+10μLDTT 进行消化 2h；将上述三份检材消化液离心取上清，用 QIAcube 核酸提取仪进行提取。

再次采用相同方法进行提取，获得标记为 TG2，KZ2，CG2 的消化液，离心取上清。至此，分别用酚-氯交替抽提。肉眼观见 TG2，KZ2，CG2 抽提后液体较 TG1，KZ1，CG1 颜色明显变淡，KZ2、CG2 较 KZ1、CG1 清澈，附着在管壁上的油脂基本消失。将抽提后的液体用 QIAcube 核酸提取仪进行提取。

2 结果

使用 Identifiler©plus 试剂盒（ABI 公司）进行复合扩增，6+4μL 的反应体系，9700 热循环仪循环数均设为 30；扩增产物在 3500XL 基因分析仪进行荧光检测分析。上述六份检材均检出基因分型。两两比较其图谱发现：TG1 大片段未检出，峰型杂乱，逐渐降低；TG2 大片段峰低，但不影响判读，整体均衡清晰。

KZ1 峰型杂乱，主峰不突出，部分位点影响判读（见图 1）；KZ2 峰型有明显改善，有杂峰但不影响主峰判读（见图 2）。CG1、CG2 结果无明显差异，CG2 较 CG1 峰型更均衡，更高。

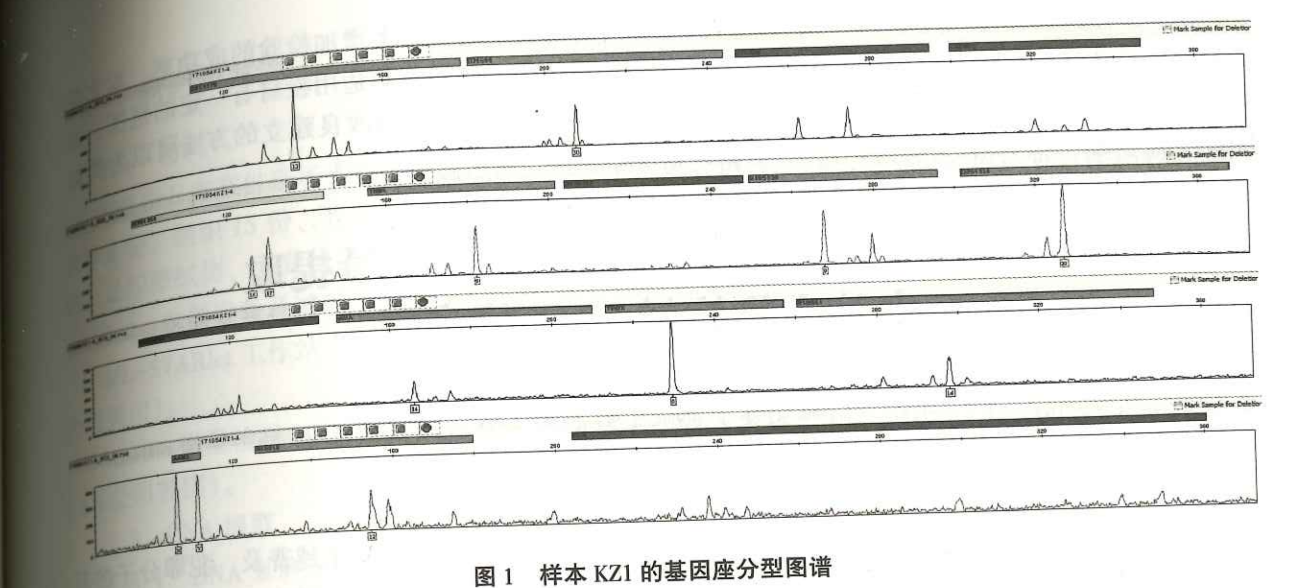


图 1 样本 KZ1 的基因座分型图谱

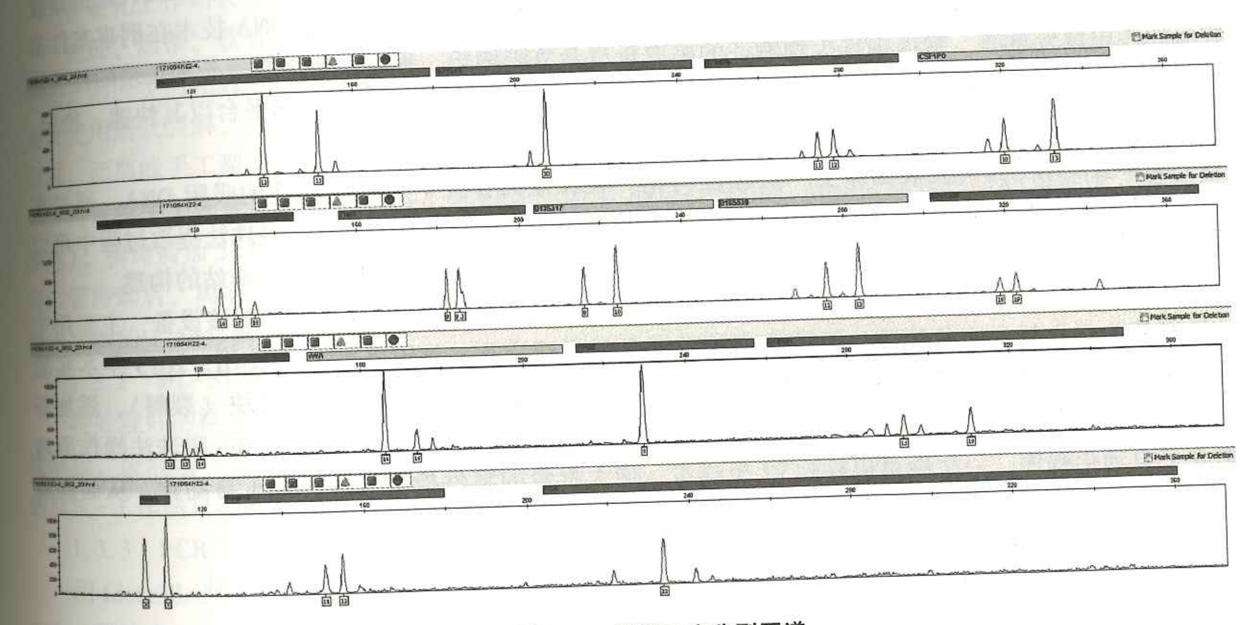


图 2 样本 KZ2 的基因座分型图谱

3 讨论

本文中所提及的铁棍，在山中比较潮湿的土壤中掩埋多日，锈蚀严重，且有大量泥土附着，提取时采用擦拭法较为合适。考虑到环境因素可能导致检材降解，且在擦拭提取过程中不可避免会混杂大量铁锈和泥土，如果在提取阶段不考虑降解因素和有效去除其中的 Fe^{+} 和腐殖质等抑制物，将在较大程度上影响下游 DNA 样本的扩增和电泳；同样，牛仔裤上的蓝色有机染料及其上附着的油脂，长骨骺端的油脂均可能在不同程度上影响最终的检验结果。这种判断从检验图谱的峰型峰高等直观方面得到了一定的验证。

在常规提取方法之前，增加酚-氯抽提步骤，有效的去除了所收集样本中的铁锈、腐殖质、有机染料、油脂等抑制物，使提取产生的 DNA 模板纯度、浓度更高；同时对于可能存在的降解因素，通过酚-氯抽提步骤能获得更多的大片段 DNA。进而取得了更满意的结果。

在 DNA 实验室工作中，针对不同的检材制定不同的检验策略会大大增加检验的成功率。本文尝试了在常规提取之前增加酚-氯抽提步骤取得了较满意的效果。但考虑其适用检材有一定的范围，如果提取微量检材，不排除增加的步骤导致 DNA 总量的损耗，但通过步骤改良建立的方法可以为类似检材的提取提供新的思路并作为其他方法的有效补充。

AusBio 磁珠结合自动化工作站批量提取案件生物检材 DNA 的应用

夏冬景，孙 飞，周超东
（安徽省合肥市公安局刑事科学技术研究所，230001）

随着 DNA 检测技术在公安机关不断的推广应用，有关 DNA 的知识也越来越普及，犯罪分子的反侦察意识不断增强，在案件现场留给侦查人员或技术人员的常规生物物证逐渐减少，取而代之的是较多的微量生物检材，微量的生物检材的手工提取流程比较烦琐，同时，随着 DNA 技术在刑事案件侦破中的作用越发重要，案件现场生物物证的提取量也会急剧增长。检材量的不断增长和烦琐的检验流程，使得传统的手工操作难以满足实际工作需求，而采用磁珠法的自动化工作平台以其快速、稳定、高效已逐步显现其在法医物证领域的优势。

磁珠法采用的是硅胶表面涂上一层磁性树脂，在胍盐的存在下，可选择性的吸附 DNA，通过多次洗涤去除杂质后再将 DNA 释放到洗脱液中，以达到纯化浓缩 DNA 的目的。磁珠法提取过程中可以不用到离心步骤，大部分操作在同一反应管中进行，适合大规模自动化操作的工作站的构建。

ML-STARlet 自动化工作站是个相对开放的提取平台，本实验室于 2010 年购置该设备，主要用于违法犯罪人员血样样本的检验，但随着直扩试剂盒的广泛应用，该设备就不再使用。2013 年本实验室申请到专项经费对该平台进行了升级改造，在工作站上配置在线、离线裂解模块（裂解），添加新的磁力架（吸附）、样本提取板（洗脱）等磁珠法需要模块（见图 1），根据 AusBio 磁珠法操作原理建立了自动化程序，一次性可以检验 91 个样本，使大批量的案件检材提取实现了自动化，从而提高 DNA 的检案效率。本文通过该设备对日常案件检材进行了检验验证。

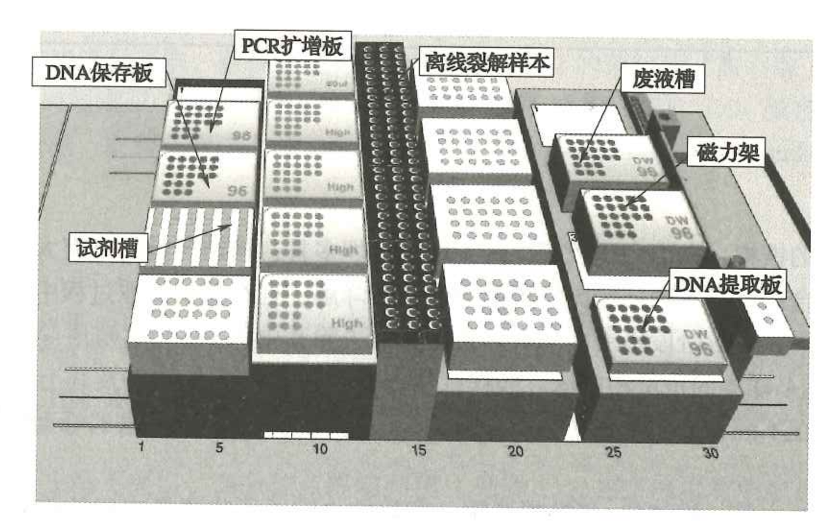


图 1 ML-STARlet 工作站布局

1 材料和方法

1.1 材料

532 份日常案件现场提取的生物检材：血斑 118 份、精斑 39 份、烟蒂 59 份、瓶口擦拭物 35 份、软骨 8 份、组织 15 份、脱落细胞类（衣服、帽子、头盔等）32 份、接触性脱落细胞类（手印擦拭物、足印擦拭物、手套印擦拭物等）226 份。

1.2 仪器设备及试剂

ML-STARlet 工作站（汉米尔顿公司瑞士），9700 扩增仪（AB 公司美国）、3500XL 测序仪（AB 公司美国）。

AusBio 微量检材 DNA 提取试剂盒（奥斯邦生物研发有限公司，中国），Identifiler© Plus 试剂盒（AB 公司美国）。

1.3 DNA 提取

1.3.1 DNA 裂解消化

自动化工作站设立的程序分在线裂解、离线裂解两种。血斑、烟蒂、软骨、组织类检材可在工作站裂解模块上消化（在线裂解），精斑类检材如果是混合斑，第一步消化后第二步消化可以在线裂解消化，也可手工消化（离线裂解）。在实际检验过程中建议使用离线裂解，因为日常受理的案件检材种类较多，载体也大小不一，载体较大的检材不能在线裂解，而离线手工裂解可以根据检材不同而调整裂解体系，从而获得更好的裂解效果。

将检材手工处理后，放入 1.5mL 提取管，加入 200μL-500μL AusBio 磁珠自带的裂解液（将检材浸泡），精斑需加 5μL-10μL DTT 盖上管盖震荡混匀，确保检材与裂解液接触。95℃孵育 10~30min。待试管冷却后，离心 13000r/s 3min，载体为硬物或者较大时，用移液器将裂解液（不含载体）转移到一个新的 1.5mL 离心管。

1.3.2 ML-STARlet 工作站提取程序

将处理好的样本按顺序放入 ML-STARlet 工作站离线裂解模块中，按程序操作要求准备好枪头、提取板、废液槽、提取试剂、磁珠等试剂耗材（磁珠在程序运行前最好手工震荡一下），运行 AusBio 磁珠法-工作站自动提取程序，选择相应的参数，2h 左右即可完成 DNA 提取工作。

1.3.3 PCR 构建及扩增

用 Identifiler© Plus 试剂盒进行扩增，反应总体系为 10μL，含 4μL（mix），2μL（primer set），2μL（超纯水），2μL（DNA 模板），试剂配好后，放入工作站试剂槽，运行程序，完成 PCR 构建工作，按照 Identifiler© Plus 操作手册，在 9700 扩增仪上扩增 28 个循环。

1.3.4 STR 分型检测

取上述 PCR 扩增产物 1μL 与 9μL 上样 Buffer（0.5μL LIZ 500+8.5μL 甲酰胺）混合后，用 ABI-3500XL 测序仪进行 STR 分型检测，使用 Genemapper ID-X 软件进行数据分析。

2 结果与讨论

各类检材采用 AusBio 磁珠法结合 ML-STARlet 工作站的 DNA 提取成功率（见表 1），STR 分型结果（衣服）（见图 2）。

对检测结果进行分析表明：AusBio 磁珠法结合 ML-STARlet 工作站对血斑、精斑、烟蒂、瓶口拭子、软骨、组织、脱落细胞类（衣服、帽子、头盔等）等常规生物检材提取成功率较高，说明所用的 AusBio 提取试剂具有较好的 DNA 提取率，自动化的提取流程也具有较高的稳定性，在实际案件检验中，可以代替手工对案件生物检材的 DNA 进行批量提取。

表 1　各类样本检出率

样本类型	数量	检出率
血斑	118	100%
精斑	39	96.1%
烟蒂	59	97.3%
瓶口拭子	35	82.3%
软骨	8	100%
组织	15	100%
脱落细胞类（衣服、帽子、头盔等）	32	43.5%
接触性脱落细胞类（手印擦拭物等）	226	11.5%

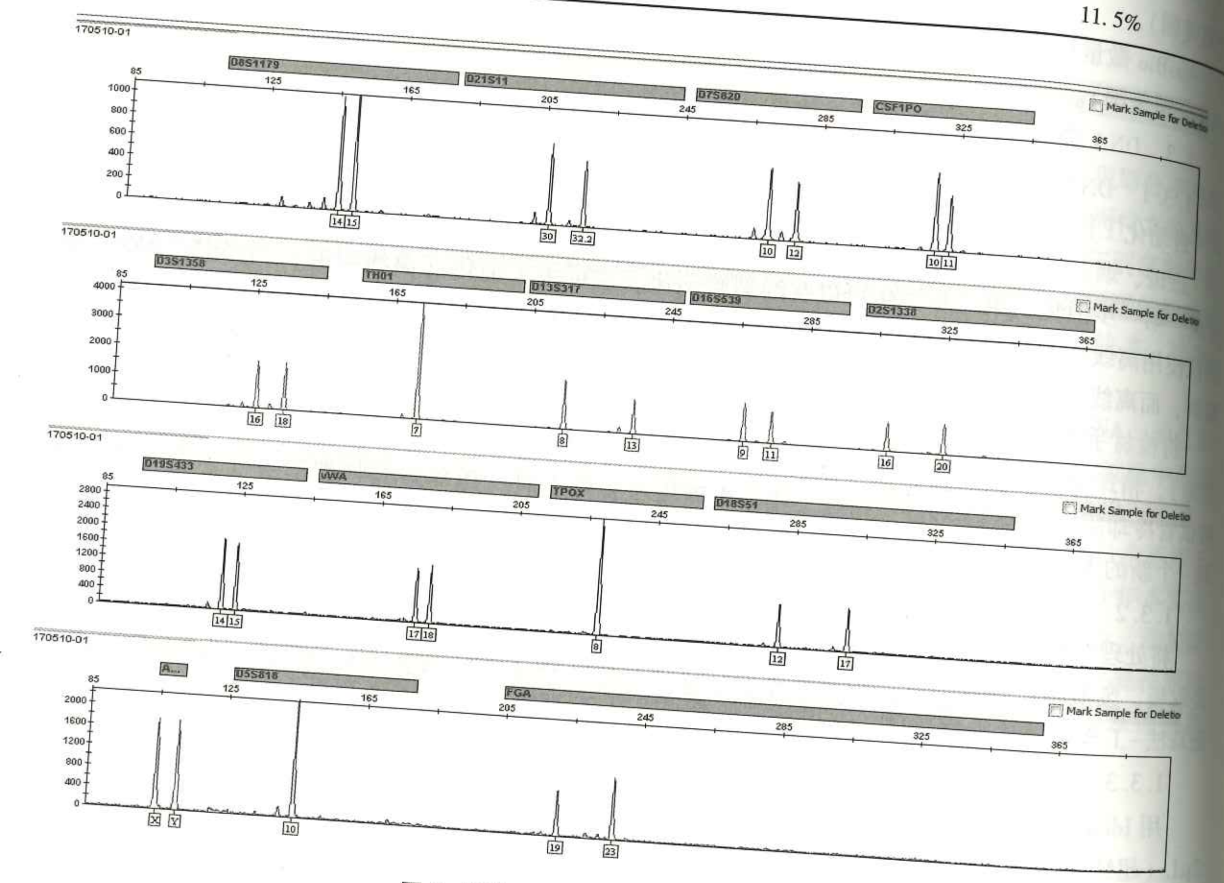


图 2　脱落细胞 STR 分型结果（衣服）

对接触性脱落细胞类（手印擦拭物、足印擦拭物、手套印擦拭物等）226 份检材的提取成功率较低，可能与其检材自身的 DNA 含量有关，该类型的检材属于疑难检材，但随着犯罪分子的反侦察意识不断增强，这些检材不断增加，该类检材不适用于常规 Chelex-100 进行提取，而纯化提取方法流程都较复杂，所以针对这些类型的检材更适合采用工作站进行提取。

该试剂的提取优势在于裂解消化过程简便，自带的裂解液里已经混合好耐高温的酶，无须再手工添加，节约了步骤。同时该试剂的裂解消化时间短，只需 95℃孵育 20min 左右，能很好地提高工作效率。存在的不足是针对瓶口、杯口擦拭物等唾液斑提取率不高，且 STR 分型出的也不均衡，有待进一步改善。

综合来看，运用自动化工作站能够解决批量案件样本前期提取工作中的繁琐，同时通过控制磁珠用量和洗脱液体积即可实现对 DNA 模板浓度的半定量，从而得到均衡 STR 基因分型。另外，该方法

通过工作站设备实现了大批量的案件检材检验的自动化，可以有效避免人为操作过程中的误差，保证提取质量。

上述表明 AusBio 磁珠结合 ML-STARlet 工作站提取案件生物检材具有较高的成功率、稳定性，适用于案件常见生物检材的批量提取。

【参考文献】

[1] 匡金枝. 法医物证 DNA 自动化检验技术体系的研究 [J]. 中国法医学杂志，2009，24（3）164-167.

Yfiler™ Plus PCR 扩增试剂盒的应用研究

孙　飞，何凤琴，侯庆唐

（安徽省合肥市公安局刑事科学技术研究所，230001）

Y-STR 家系排查是运用 Y 染色体的父系遗传规律，对案件现场的生物检材进行 Y-STR 基因检测，并与可疑区域家系进行比对，从而查找线索，缩小侦查范围的一种技术手段。目前，国内公安机关 DNA 实验室广泛开展 Y 染色体分析技术运用于案件侦破，不少实验室正在开展 Y-STR 数据库建设工作。我们在日常工作中发现，由于 Y 染色体 DNA 的识别率低，出现家系比中后，增加检测位点数又可排除的情况时有发生，传统的检测试剂盒如 Y-filer、pp-Y 试剂盒均只有 16 个基因座，难以满足大批量建库需要提高识别率的要求。Yfiler™ Plus PCR 扩增试剂盒是 AB 公司研发的新一代 Y-STR 扩增试剂盒，扩增基因座达 27 个，并且可以直接扩增。本文随机选择 273 份保存在实验室建库区的男性人员血液样本及 40 份常见案件生物样本为检材，验证该试剂盒及其提供的方法的有效性及可靠性，为实验室开展 Y-STR 数据库建设提供新的试剂盒选择。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　主要试剂与仪器

ABI3500XL 型遗传分析仪（ABI 公司，美国），9700 型 PCR 扩增仪（ABI 公司，美国），Yfiler™ Plus PCR 扩增试剂盒（ABI 公司，美国），Harris Micro-punch 打孔器。

1.1.2　样本

273 份人员血液样本均为保存在合肥市公安局 DNA 实验室样本区的违法犯罪人员建库样本，使用长春博坤公司生产的血样采集卡保存。其中，2012 年采集的建库人员样本 91 份，2014 年采集的建库人员样本 91 份，2016 年采集的建库人员样本 91 份，所有选择的样本在纳入研究样本前，均利用 Goldeneye20A 直扩试剂盒检出了良好的常染色体基因分型。

选择的 40 份案件检材均为 2017 年合肥市公安局 DNA 实验室日常案件中收集的样本，其中烟蒂 10 份，长春博坤唾液采集卡采集的人员唾液斑检材 20 份，所选唾液斑样本在纳入研究样本前，均利用 Identifiler © Plus 试剂盒检出良好的常染色体基因分型；接触性 DNA 棉签擦拭物 10 份，选择的样本在 Identifiler © Plus 系统检出的 STR 基因分型均衡性一般，峰高均在 1000 以下（见图 1）。

1.2　方法

1.2.1　检测样本准备

长春博坤人员血样采集卡样本：用 1.0mm 打孔针打孔，放入 96 孔板，直接扩增。

烟蒂样本：剪取 2mm×2mm 大小烟蒂末端外层纸，放入 96 孔板，直接扩增。

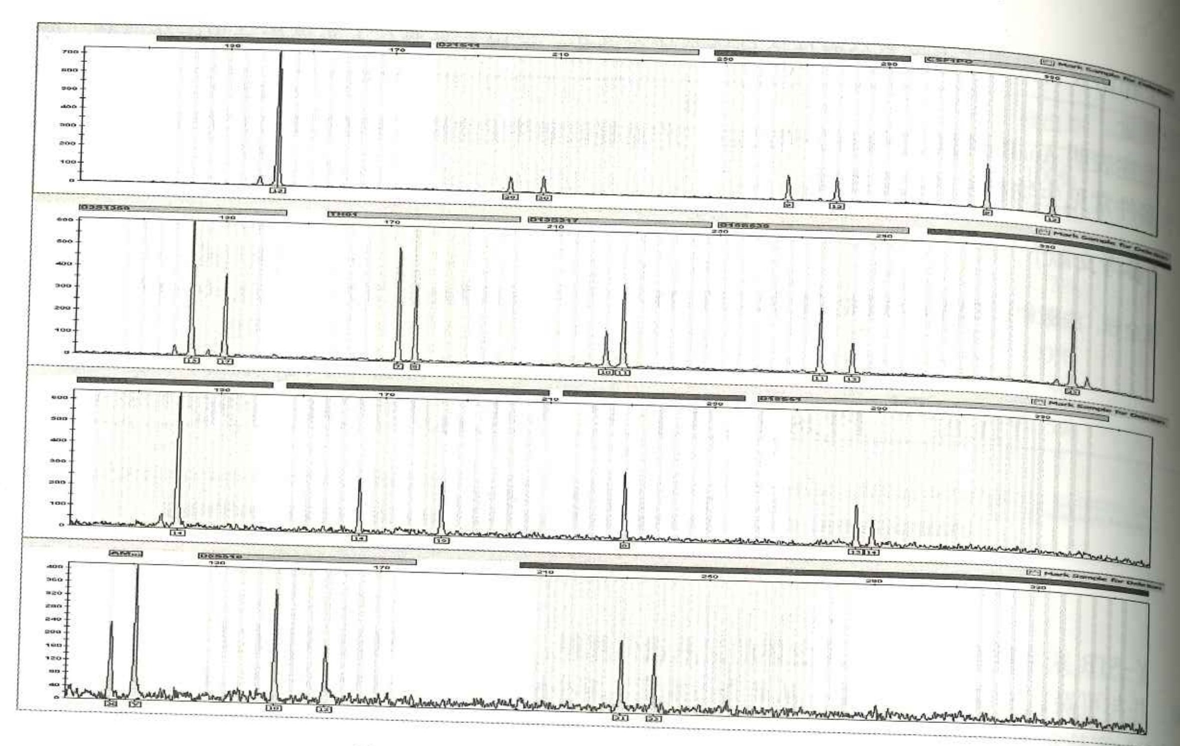


图 1　接触性 DNA 棉签擦拭物的 STR 基因分型

长春博坤唾液采集卡样本：用 1.0mm 打孔针打孔，放入 96 孔板，直接扩增。

接触性 DNA 棉签擦拭物样本：用 MagAttract © M48 DNA Manual 试剂盒提取纯化样本后，将提取好的样本加入扩增试剂进行扩增。

1.2.2　*扩增体系及扩增循环数*

选择 10μL 扩增体系，直扩按照 MIX：PR：H_2O=4：2：4 比例配置 PCR 扩增试剂；接触性 DNA 棉签擦拭物样本按照 MIX：PR：H_2O=4：2：3 比例配置 PCR 扩增试剂，加入 1μL 模板 DNA。扩增程序选择 95℃ 1min→94℃ 4sec→61.5℃ 1min→60℃ 22min→4℃，设置扩增循环数为 29 个循环，进行 PCR 扩增。

1.2.3　*扩增产物的分离与检测*

扩增产物使用 9700 型 PCR 扩增仪程序 95℃ 3min→4℃ 3min 变性，经 3500XL 遗传分析仪检测，选择六色荧光检测的电泳模式，检验结果用 GeneMapper © ID-X 专家软件进行分析。

2　结果

所有样本检验情况（见表 1）。

表 1　全部样本检验情况

样本类型	提取时间	孔径或大小	完整基因座检出率
血样采集卡（91 份）	2012	1.0mm	98%
血样采集卡（91 份）	2014	1.0mm	100%
血样采集卡（91 份）	2016	1.0mm	100%
唾液采集卡（20 份）	2017	1.0mm	100%
烟蒂（10 份）	2017	2.0m×2.0mm	100%
棉签擦拭物（10 份）	2017	无	100%

273 份人员血液样本中，2012 年人员样本有 2 人份样本出现基因座缺失，其余全部检出完整的 Y 基因分型（见图 2），2014 年、2016 年样本全部检出完整的 Y 基因分型（见图 3），年代越远，平均峰高越低，均衡性有变好趋势；10 枚烟蒂样本均检出完整的基因分型（见图 4）；20 份唾液采集卡均检出完整的 Y 基因分型（见图 5），且峰高较高；10 份接触性 DNA 棉签擦拭物样本均检出完整的 Y 基因分型（见图 6），均衡性好，峰高均在 4000~8000。

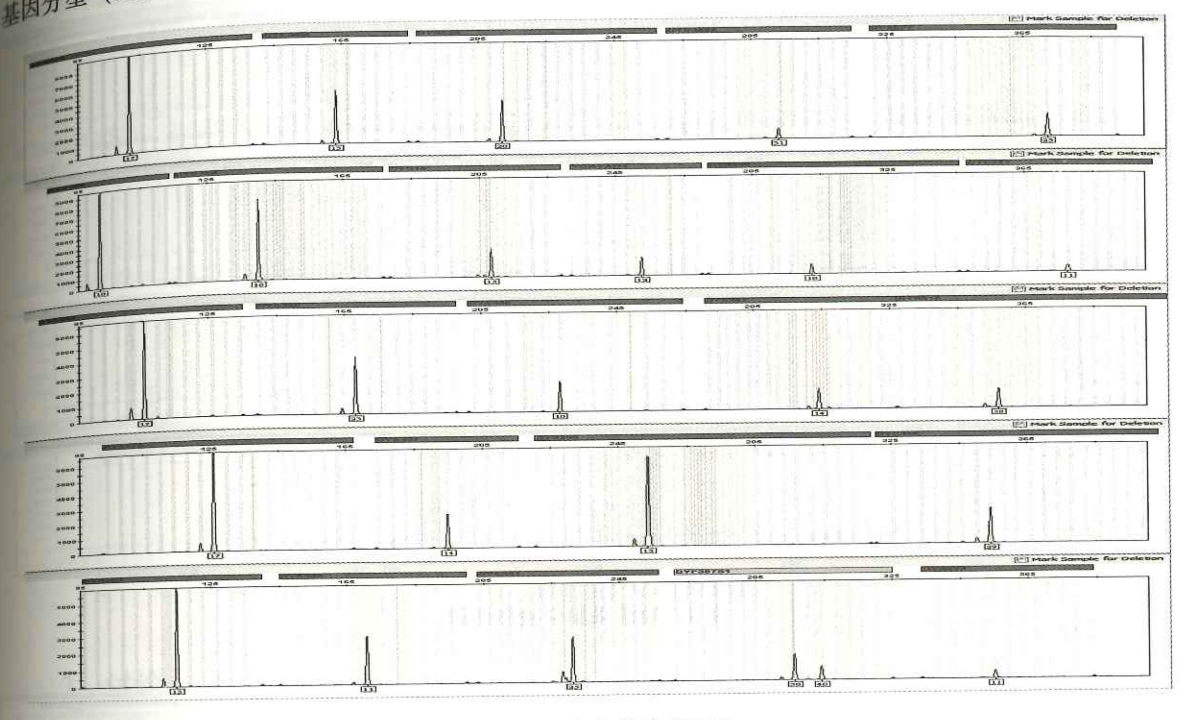


图 2　2012 年血样检测图谱

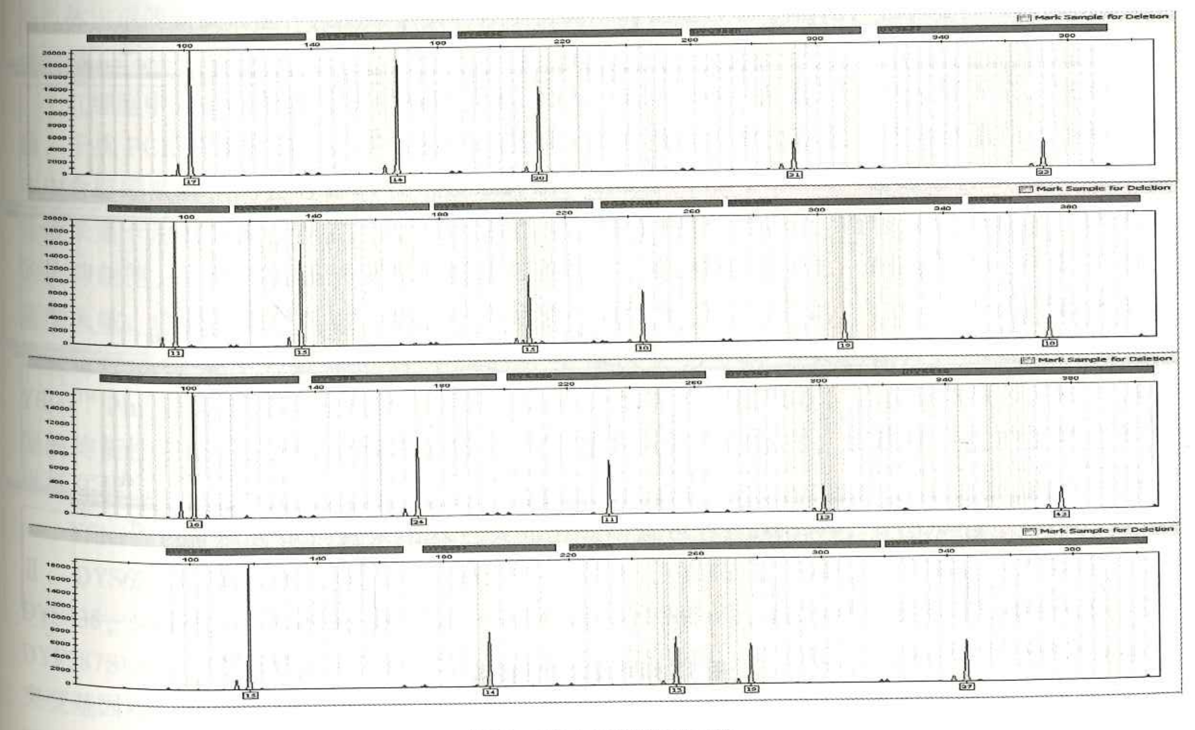


图 3　2016 血样检测图谱

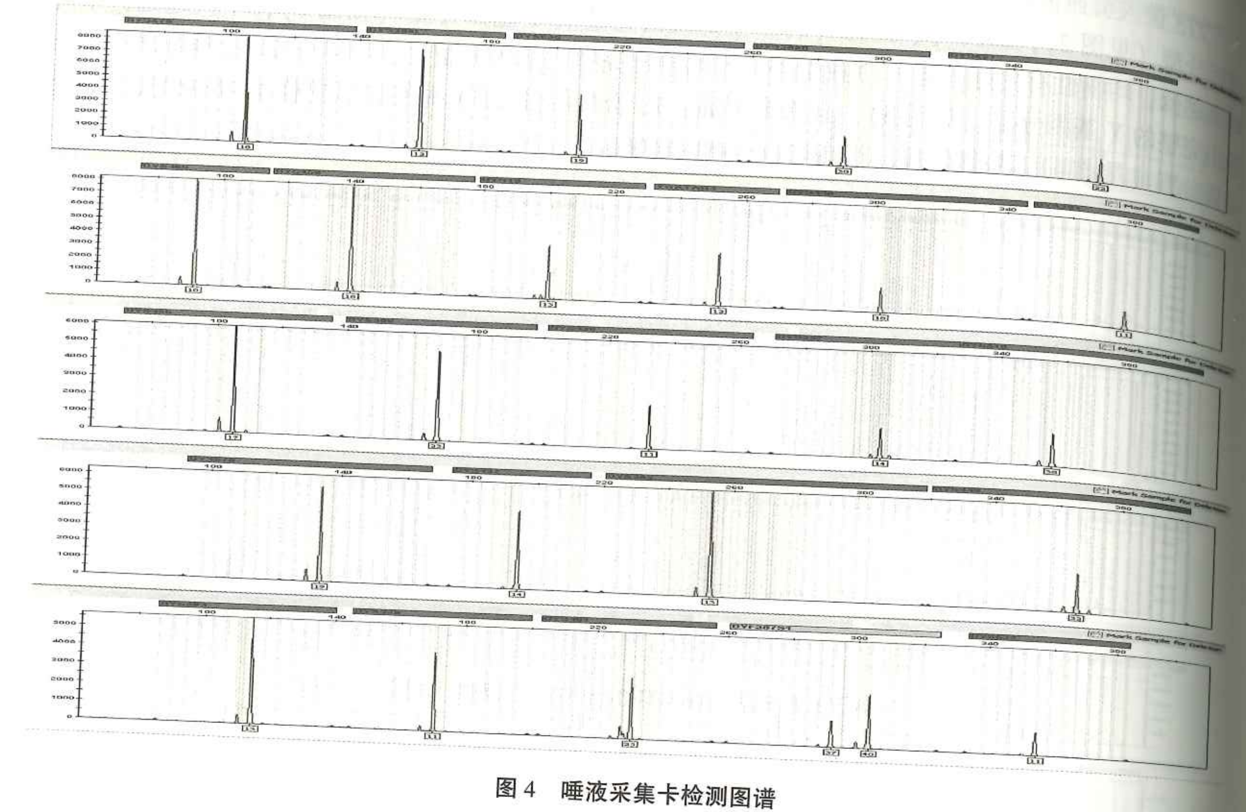


图4　唾液采集卡检测图谱

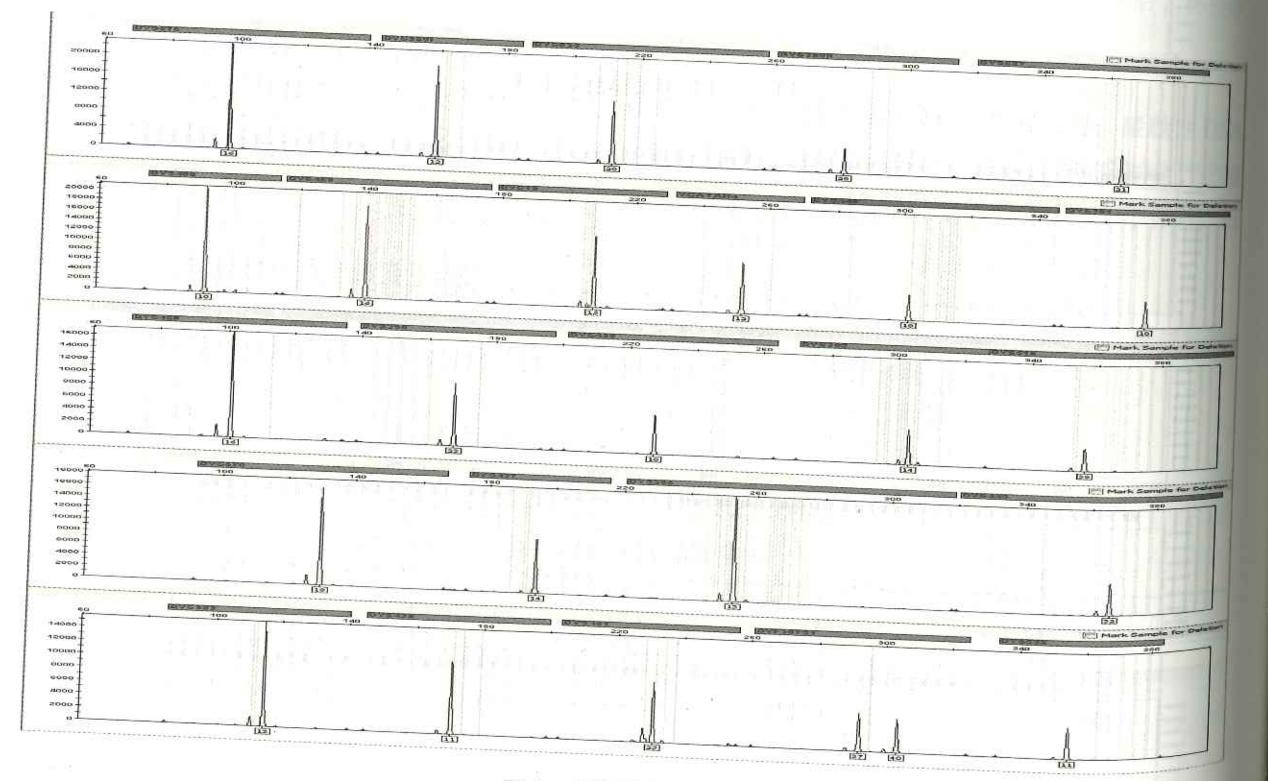


图5　烟蒂样本检测图谱

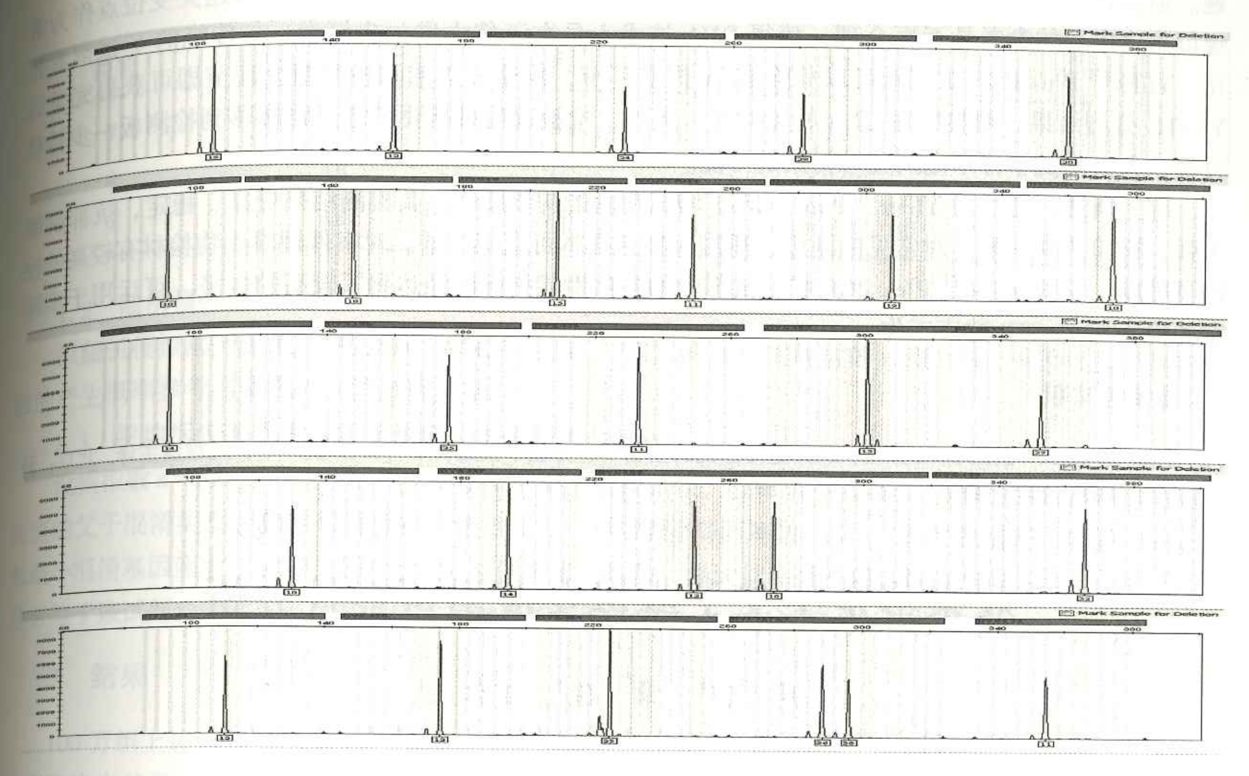


图6　棉签擦拭物检测图谱

3 讨论

Y-STR商品试剂盒检出的基因分型服务于侦查破案，其鉴定结果可作为证据使用，因此，对Y染色体出现的新试剂盒，检测其在实际样本检验中的稳定性和可靠性，有利于Y-STR检测技术的良性发展。

红细胞中的血红蛋白等物质有时会和DNA一起在DNA提取过程中保留下来，它会抑制聚合酶，干扰PCR的正常进行。本实验中，建库人员血液滤纸中含有较多的血红蛋白，唾液采集卡样本中含有唾液酶，均会对PCR反应造成抑制，Yfiler™ Plus PCR试剂盒通过打1.0MM滤纸血片和唾液采集卡片的方式，直接加入96孔板扩增，免予提取及纯化，检验成功率较高，体现出很强的抗抑制能力。对实际案件常见的脱落细胞样本，经磁珠法纯化，Yfiler™ Plus PCR扩增试剂盒高度灵敏，当模板量较低时，仍能给出完整的男性Y分型。因此，Yfiler™ Plus PCR扩增试剂盒的灵敏性和特异性为疑难混合样品的分型提供了另一种工具。此外，当模板浓度适度时，Yfiler™ Plus PCR试剂盒检测出的STR基因座分型的均衡性较好，当模板浓度较高时，基因座分型的均衡性变差，这种变化要求各实验室针对不同类型的检材，应选择合适的扩增样本量及扩增循环数。

Yfiler™ Plus PCR试剂盒采用六色荧光，试剂盒包含：DYS576，DYS389 Ⅰ，DYS635，DYS389 Ⅱ，DYS627，DYS460，DYS458，DYS19，GATA _ H4，DYS448，DYS391，DYS456，DYS390，DYS438，DYS392，DYS518，DYS570，DYS437，DYS385a/b，DYS449，DYS393，DYS439，DYS481，DYF387S1a/b，DYS533。其中DYS576，DYS627，DYS518，DYS570，DYS449，DYS387S1a/b是快速突变基因座，Yfiler™ Plus PCR试剂盒通过有高分辨能力的新位点（其中包括7个快速突变的Y-STR）提高识别能力，一定程度上解决了大批量建库Y-STR识别率较低，无价值比中概率较高的难

题。但快速突变位点录入 Y 数据库，可能会造成一些有价值的比中的错失，将快速突变位点作为常规位点比中后的参考是否更合理，值得 DNA 技术人员在工作中进一步探索。与传统的 Y 试剂盒相比，Yfiler™ Plus PCR 试剂盒可以免除 DNA 提取环节，仅通过扩增和检测两个环节即可获得完整的 Y-STR 分型结果，明显缩短 DNA 检验时间，另外，检验过程只需要扩增产物转移到检测板一步转移过程，大大降低了样本之间交叉污染的可能。

综上所述，通过对 Yfiler™ Plus PCR 扩增试剂盒的初步验证，其检测结果可靠、稳定，抗抑制能力强，检验成功率高，对常见的滤纸、唾液采集卡样本可直接扩增，对案件疑难生物检材有较高的检测灵敏度，说明 Yfiler™ Plus PCR 扩增试剂盒的各项性能指标已经达到了较高的水平，可运用于实际案件检验与 Y-STR 建库工作。

【参考文献】

[1] John M. Butler. 法医 DNA 分型：STR 遗传标记的生物学、方法学及遗传学［M］. 侯一平，刘雅诚主译. 北京：科学出版社，2007：112.

双亲鉴定中父子或母女混淆可能性分析

周　密[1]，章　俊[2]，丁仁杰[1]
（1. 安徽省芜湖市公安局，241000；2. 中德美联生物技术有限公司，214000）

在部分双亲亲子鉴定案例中，不仅父子和母子关系不能确定，而且也不能确定父子（母女）对应关系。在人员信息缺乏的情况下，在父母子中，可根据性别判断母亲，却无法判断谁是父、谁是子；或父母女中，可根据性别判断父亲，却无法判断谁是母，谁是女。本文称这种不能确定父子（母女）对应关系为父子（母女）混淆。本文不仅从理论上研究父子（母女）混淆，而且以随机模拟法统计各试剂盒的统计混淆比率（P）。

1　方法

1.1　父子（母女）混淆理论分析

从常染色体 STR 基因型来看，父子混淆和母女混淆完全相同，因此本文仅讨论父子混淆情况。设单基因座上父母子的等位基因为 A、B、C、D。对父母子的不同排列组合进行分析，共计 9 种类型（见表 1）。其中，类型 1、2、5、6、8 可混淆；类型 3、4、7、9 不可混淆。

表 1　父子的混淆类型

类型	父	母	子	混淆
1	AA	AA	AA	是
2	AA	AB	AA/AB	是
3	AA	BC	AB/AC	否
4	AB	AA	AA	否
5	AB	AA	AB	是
6	AB	AB	AA/AB	是
7	AB	AC	AA	否
8	AB	AC	AB/BC	是
9	AB	CD	AC/AD/BC/BD	否

1.2　随机模拟法

以随机模拟法产生 ID、PP18D、AGCU EX20、PP21 共 4 个试剂盒的 n 组父母子基因型。等位基因的产生概率参考河南汉族人群基因频率。

1.3　平均拆分基因座数和平均拆分组合数算法设计

设模拟数 n=100 万。在各试剂盒的多基因座上模拟 n 组，在每组中参照表 1 分别判断各常染色体基因座的父子混淆类型，如果可混淆则计数 S_1+1。平均混淆基因座数（$\bar{x}$）、最大混淆基因座数（max）和最小混淆基因座数（min）分别为各组 S_1 的算术平均数、最大值和最小值。同时判断每组获得的 S_1 值是否等于该试剂盒的常染色体基因座数，如果相等则计数 S_2+1。各试剂盒的混淆比率（P）$=S_2/n$。

2　结果

100 万组上述试剂盒的 P、$\bar{x}$、max 和 min（见表 2）。表 2 结果表明，各试剂盒的 P 均为 0。因此双亲鉴定中父子（母女）混淆可能性低于百万分之一，可以忽略不计。

表 2　各试剂盒 R、$\bar{x}$、min 和 max

试剂盒	常染色体基因座数	R	$\bar{x}$	min	max
ID	15	0	5.7	0	14
PP18D	17	0	6.2	0	15
AGCU EX20	19	0	6.7	0	16
PP21	20	0	7.0	0	17

3　讨论

ID、PP18D、AGCU EX20、PP21 等试剂盒基本涵盖行业内常见 STR 基因座，为适应双亲亲子鉴定试剂盒的多样性，本文同时对多试剂盒进行随机模拟法分析，常染色体基因座个数从 15~20，具有一定的代表性和说服力。

由表 1 可得，理论分析无法对多基因座上是否会发生混淆进行判断。如果只鉴定少量基因座（≤5），完全可能出现父子（母女）混淆。因此本文以法医 DNA 计算器为基础平台，以随机模拟法对常见试剂盒的父子（母女）混淆进行大量数据统计研究。表 2 结果表明各试剂盒发生混淆的基因座平均比例约为 36%，而整试剂盒发生父子（母女）混淆可能性极低，可忽略不计。因此，本文证明在父子（母女）对应关系不能确定的双亲鉴定案例中，可以根据遗传规律推断对应的父子（母女）。

【参考文献】

[1] 周密，张炜. 亲缘关系中等位基因共享分析［J］. 中国法医学杂志，2015，30（6）：571-573.
[2] 刘亚举，郭利红，史绍杏，等. 河南汉族人群 39 个 STR 基因组遗传多态性［J］. 法医学杂志，2014，30（3）：217-220.

长时间泥水浸泡擦拭物 DNA 检验一例

邹　磊[1]，胡　颖[2]

（1. 安徽省蚌埠市公安局，233000；2. 安徽省肥东县公安局，231600）

1　案例资料

简要案情：

2015 年 8 月 23 日下午 2 时许，怀远县魏岗村村民范某某在返回家的途中失踪，2015 年 8 月 24 日，范某某的尸体在其家东北 100 米处的排污沟里被发现，经初步尸体检查后法医提取范某某肛擦棉签和肛管擦拭棉签送检。

2　检验方法

2.1　确证实验

观察检材后发现，由于范某某尸体在排污沟中浸泡超过 17h 之久，肛擦棉签和肛管擦拭棉签上沾有大量泥水，取适量棉签擦拭部放入 1.5mL 离心管，按照 GA 765-2008 及 GA 766-2008 的标准进行确证实验结果均为阳性。

2.2　DNA 提取

首先应用两步消化法提取棉签擦拭部，离心漂洗五次得到沉淀物，通过观察可以发现沉淀物中仍然含有大量泥土及其他物质。

应用 Micro Kit 纯化试剂盒对沉淀物进行纯化，沉淀物中加入 10mg/mL PK 20μL、20μL 1M DTT、180μL Buffer ATL，震荡摇匀，56℃水浴中保温 1h；10000rpm 离心 30s，加入 200μL Buffer AL，彻底混匀，56℃水浴中保温 10min；10000rpm 离心 30s，加入 200μL 无水乙醇，充分混匀；10000rpm 离心 30s，将混合物移至 QIAamp Spin Colmn，盖上盖子，8000rpm 离心 1min，弃收集管，将 QIAamp Spin Colmn 移至新收集管；打开盖子，加入 500μL Buffer AW1 盖上盖子，8000rpm 离心 1min，弃收集管，将 QIAamp Spin Colmn 移至新收集管；打开盖子，加入 500μL Buffer AW2 盖上盖子，13300rpm 离心 3min，弃收集管，将 QIAamp Spin Colmn 移至 1.5mL 离心管；打开盖子，加入 40μL 纯水，室温 5min 以上，8000rpm 离心 1min 得到纯化产物 4℃ 保存备用。

2.3　扩增和电泳

取 4μL 的检材 DNA，分别加入 4μL 缓冲液、2μL 引物，振荡混匀后离心 20s 后应用 Identifiler Plus 系统进行扩增，扩增 28 个循环。扩增产物经 ABI-3130XL 型 DNA 序列分析仪电泳分离和激光扫描分析，所得数据用 GeneMapper 软件进行分析。

3　检验结果

经过 Identifiler® Plus 系统扩增，肛擦棉签和肛管擦拭棉签均获得完整的 DNA 分型图谱，检出同一男性基因型，无容差比中嫌疑人魏某某家中口杯上基因型。

4　讨论

在泥水中浸泡过或被泥土污染的检材 DNA 不易提取，主要原因是泥土中含有 DNA 聚合酶的抑制剂，抑制剂会抑制目的片段扩增。同时水中的微生物分泌的 DNA 酶会促进 DNA 的降解。在本案例中，受害人尸体被抛弃到排污沟中 17h 以上，对精斑保存有很大的不利影响，如果使用常规得检验方法存在这两个比较难以调和的矛盾。

首先，如果单用两步消化法，由于样本被排水沟中的泥土与微生物分泌的 DNA 酶所污染，即使是两步消化后取上清液扩增，也必然会因为 DNA 聚合酶抑制剂抑制扩增造成无法检出有效基因分型，或者由于 DNA 的降解丢失位点。

其次，如果只是使用 Micro Kit 纯化试剂盒直接纯化提取两份物证，则必然会造成同时消化男性成分和女性成分，并且，由于受害人下体有出血，在阴擦和肛擦上抗人血红蛋白金标试剂条检验也均为阳性，考虑到女性血液中 DNA 含量较高，在扩增中极易发生女性成分将男性嫌疑人成分掩盖，无法有效检出单纯的嫌疑人基因分型。

所以笔者经过认真思考，决定将两步消化法与 Micro Kit 纯化试剂盒纯化方法结合使用，先使用两步消化法的第一步消化法，将女性成分的细胞消化，释放出女性成分的 DNA，通过离心漂洗五次使的女性受害人的 DNA 被彻底洗去，再使用得到 Micro Kit 纯化试剂盒消化沉淀物中得男性精子，使的男性精子被消化释放出男性嫌疑人的 DNA，并使用 Micro Kit 纯化试剂盒去除泥土中的 DNA 聚合酶抑制剂与微生物分泌的 DNA 酶，从而成功检出理想 STR 分型。

经过本次试验，我们可以发现传统的实验方法以及各种试剂盒在实际工作由于各个案件的案情不同和检材提取的条件不同，造成使用中有时会遇到各种问题，经过认真思考总结，在实际问题中具体问题具体分析，扬长避短，就可以化难为易，找出成功的方向。

【参考文献】

[1] John M.. Butler. Forensic DNA Typing Biology，Technology，and Genetics of STR Markers：108-114.

[2] 郑会芬，顾丽华，平原，等. 浸水潮湿血痕的 DNA 检验 1 例［J］. 法医学杂志，2006（2）：143.

[3] 王静，赵媛霞，苏芹，等. 水浸和洗涤血样本的 DNA 检验［J］. 中国法医学杂志，2013（2）：151-153.

通过 DNA 检验早期胚胎在强奸致孕案件中的应用及分析

疏　觅，侯　杰

（安徽省马鞍山市公安局，243000）

1　案例材料

案例 1：2015 年 11 月，在马鞍山市雨山区东湖碧水湾小区某一民房内，宋某被刘某强奸致孕。2016 年 1 月，宋某在医院实施人工药物流产，产下胚胎一个。后雨山分局刑警大队民警提取流产的包含羊膜、羊水的完整胚胎、受害人宋某以及嫌疑人刘某的血样送至市公安司法鉴定中心 DNA 实验室进行 DNA 检验。鉴定人员分别提取胚胎组织、羊水进行检验，成功检出胚胎和羊水细胞的 STR 分型（二者分析完全一致），并与受害人宋某、嫌疑人刘某基因分型进行比对，确定该胚胎与受害人宋某、嫌疑人刘某符合生物学遗传关系。

案例 2：2016 年 10 月，马鞍山市和县乌江镇金马村周某被同村村民王某强奸致孕。2017 年 1 月 22 日，周某在马鞍山市医院做引产手术。后和县公安局刑侦大队民警提取混合了胎盘的破碎胚胎组织一份、受害人周某血样以及嫌疑人王某血样送市公安司法鉴定中心 DNA 实验室进行 DNA 检验。鉴定人员在流产的混合破碎组织中仔细查找辨认，找到了胚胎组织，经多次反复检验，终于成功得到胚胎 STR 分型，经与受害人周某、嫌疑人王某基因分型比对，确定该胚胎与受害人周某、嫌疑人王某

符合生物学遗传关系。

2 讨论

在日常工作中所见的强奸致孕类案件，通过对被害人胚胎组织进行 DNA 检验鉴定可以认定相关犯罪嫌疑人。此类案件的检验鉴定过程的重点归纳起来包括：1. 尽可能防止母体 DNA 对胚胎 DNA 的干扰，其重点在于胚胎 DNA 的准确提取，特别是在前期处理过程中应仔细辨别。在找到胚胎的组织后多次用超纯水反复清洗，确保对母体 DNA 细胞的完全去除。2. 强奸致孕类案件的检验鉴定对送检的胚胎组织条件有一定的要求，一般 3 个月以上的胚胎组织便于检验鉴定。对于 2 月龄胎儿，因其长仅 1.5~2.0cm，且在人流过程中有损坏而难于同母体组织区分，对鉴定影响较大。对此种情况的处理可采用多次多量清水冲洗方法，去除外周血凝块，留取固体组织，再用清水浸泡，约半小时后观察，会发现水中有漂浮散开的珊瑚状组织和长条组织，珊瑚状组织即为胚胎绒毛组织，取其检验即可。案例 2 中，胚胎胎龄约为 4 个月，胎儿器官组织已经发育到一定大小，所以在送检的混合破碎流产组织中，通过仔细寻找辨认还能找到胚胎组织，通过超纯水仔细清洗处理及后续多次鉴定分析，依然能得到单纯胚胎的基因分型。而完整胚胎对于检验鉴定的进行则便利许多。

在实验过程中发现，案例 1 中送检的完整胚胎长约 6cm，胚胎组织便于提取，且包含羊膜、羊水，结果表明羊水细胞的 DNA 分型与胎儿的基因分析完全一致，这为以后检材条件相似的同类案件的检验鉴定方式方法提供了一定参考。综上所述，办理强奸致孕类案件时，办案民警应详细调查了解案情，并与技术人员及时沟通取样事宜。本文案例表明，胎儿的流产如果使用人工药流的方式，将更容易获得较为完整的胚胎组织，从而为后续的 DNA 检验鉴定分析顺利进行和案件的侦破提供一定的帮助。

亲缘鉴定中 STR 基因座异常分析

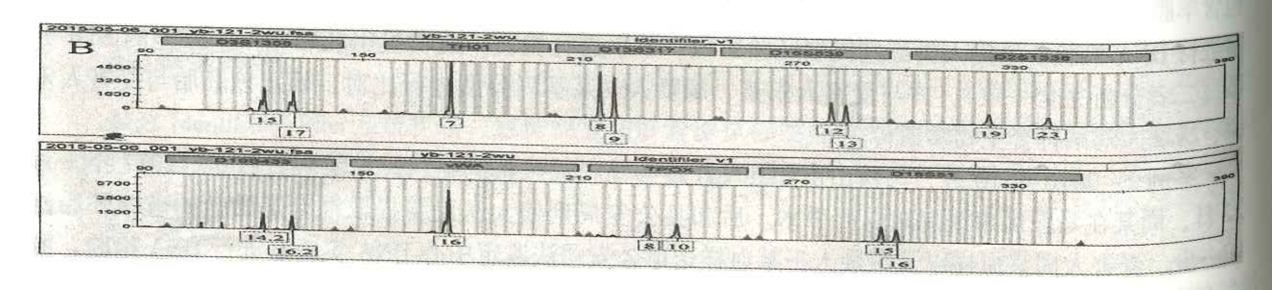
张 艳，宁 腾

（安徽省淮北市公安局刑事科学研究所，235000）

1 案情及方法

1.1 简要案情

2015 年 4 月 19 日，张某驾驶重型牵引车撞到行人（无名氏），后该行人又被不明车辆碾轧头部致死。对无名尸心血、疑父朱某（配偶已逝）血样进行了检验。



1.2 检验方法

先用 Identifiler 复合扩增无名尸心血及朱某血样，结果 14 个基因座均符合遗传规律，而无名尸、朱某 vWA 基因型分别是 16、17/18，不符合遗传规律（见图 1）。又用阅微 Microreader 20 复合扩增系统对上述检材进行检测，vWA 基因型与 Identifiler 复合扩增系统检验结果相同，且无名尸心血在 Penta D 出现三条带，基因型为 9/12/13，朱某为 9/11。再用 AGCU Y24 系统扩增两份血样，结果全部相同。

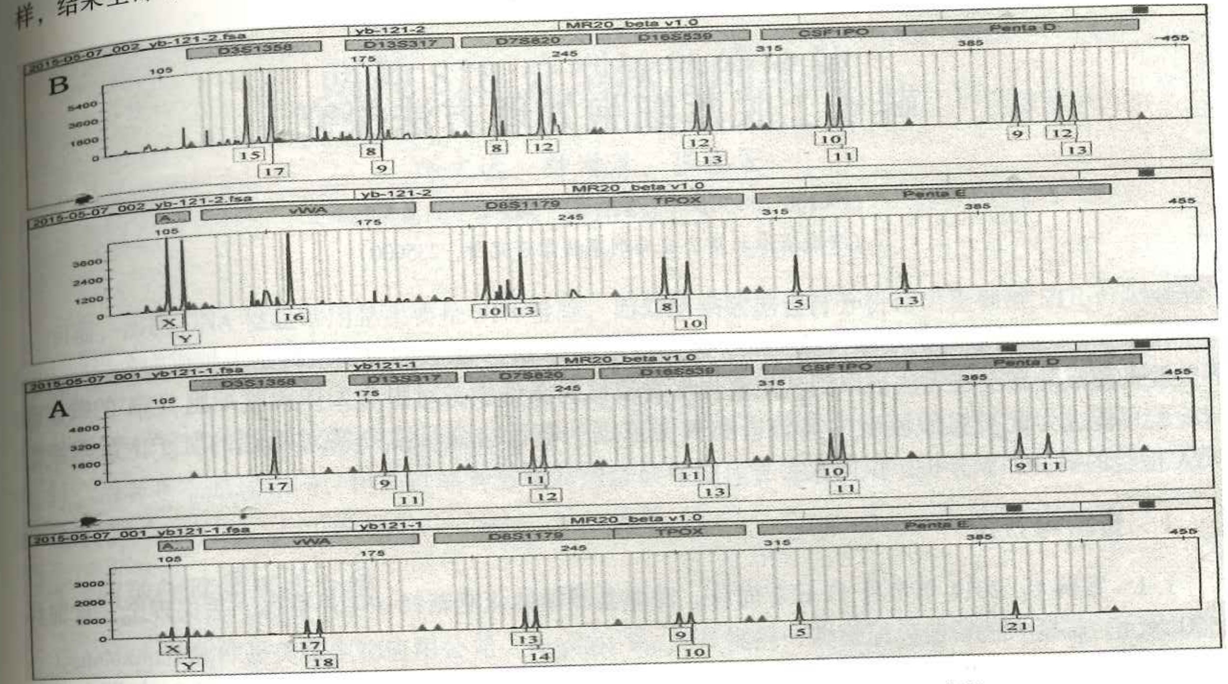


图 1 Identifiler 试剂盒：A：疑父朱某 DNA 分型，B：无名尸 DNA 分型

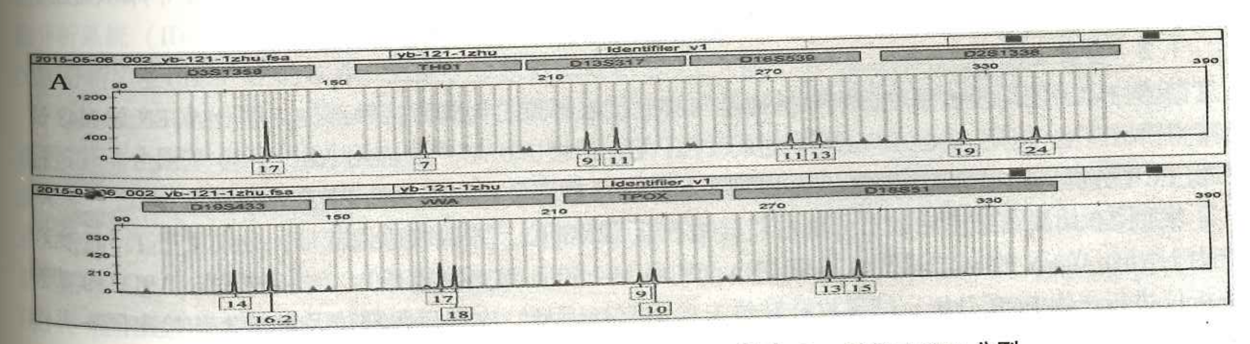


图 2 Microreader 20 试剂盒：A：疑父朱某 DNA 分型，B：无名尸 DNA 分型

2 讨论

人类染色体为双倍体，位于染色体非功能区的短串联重复序列由两个等位基因组成，在某一基因座，正常情况下最多有两条带。但在性细胞减数分裂形成精子、卵子时，某一条或几条同源染色体受体体内外非正常环境影响形成嵌合分裂，这样，某一条或几条同源染色体在减数分裂时并没有真正分裂。在精卵结合时，某一条或几条同源染色体就形成了 3 条甚至 4 条同源染色体，这样，位于该同源染色体上的基因座在荧光电泳分型时就会表现为 3 条带、4 条带。再有，染色体移位、体细胞突变等也会引起 3 条带、4 条带现象。本实验室在排除检验过程污染、PCR 扩增所引起的非特异性产物、电

泳条件及分析软件造成等影响因素外，保证了检验结果的可靠性。另外，此案是一起二连体亲缘鉴定，经 Identifiler 试剂盒和 Microreader 20 试剂盒检验，结果显示，两个试剂盒相同基因座的基因分型一致。在检验的 20 个常染色体 STR 基因座中，除 vWA 外，其他基因座均符合单亲遗传规律，再结合 Y-STR 结果，可给出不排除结论。

【参考文献】

[1] 伍新尧. 高级法医学 [M]. 郑州：郑州大学出版社，2002：207-209.

鞋子上脱落细胞处理方法探究

张 艳，王 鑫

（安徽省淮北市公安局刑事科学研究所，235000）

随着 DNA 检验技术的不断飞跃发展，人体脱落细胞 DNA 检验的载体检材越来越成为令当前法医界关注的焦点。在一些无法提取到其他常规生物检材的案件中，对附着人体脱落细胞 DNA 的载体进行检验可能成为此类案件侦破的突破口和关键证据。笔者结合日常办案对遇到的鞋子上脱落细胞 DNA 检验的案件加以分析，供同人参考。

1 资料与方法

1.1 案例 1：2014 年 7 月 17 日 2 时许，濉溪县濉溪镇化肥新村一住户被盗，丢失现金、首饰共 2500 余元。嫌疑人遗留蓝色凉拖鞋一只。

案例 2：2014 年 7 月 17 日凌晨，濉溪县石板街西酒厂家属院 193 号，况某（女）与朋友彭某（女）在自家睡觉时感觉有人进入室内被惊醒，看到一名男子站在床边，在反抗过程中，况某的左手和彭某的双腿被犯罪嫌疑人用刀砍伤，后犯罪嫌疑人逃离现场，遗留黑色皮鞋一双。

1.2 方法

案例 1：采用两步擦拭物分别擦拭拖鞋与脚底接触部位、与脚背接触部位，用 QIAGEN 的 M48 试剂盒提取 DNA，使用 AGCU17+1 系统进行 PCR 复合扩增，扩增产物应用 ABI-3130 基因分析仪进行产物 PCR 分析，结果鞋底部未检出基因型，与脚背接触部位检出一男性 DNA 分型。

案例 2：用脱落细胞粘取器分别粘取鞋垫、鞋后跟部位，并剪取适量鞋带，分别置于 1.5ml 离心管内，用 QIAGEN 的 M48 试剂盒提取 DNA，利用 Identifiler 试剂盒进行 PCR 梯度扩增，ABI3130 基因分析仪进行产物 PCR 分析。结果皮鞋鞋垫未检出人基因型，皮鞋后跟部位及鞋带上均检出同一男性 STR 分型。

2 结果与讨论

办案实践中，很多案件现场，特别是盗窃现场，无法提取到如烟头、血迹等常规检材，现场遗留鞋子即是常见脱落细胞检材。由于人脚底表皮细胞多为角化的无核细胞，所含 DNA 量少，或犯罪嫌疑人穿袜子等，使得鞋内部鞋底或鞋垫 STR 检验分析的难度较大，提取率不高。转换思维，对于拖鞋，人脚背与鞋子摩擦，在鞋子上留下脱落细胞的几率较大，用二步转移法提取鞋子上方与脚背接触处，易获得较好的 STR 分型。对于皮鞋、运动鞋等，由于大部分人会穿袜子，使鞋内底部留下人脱落细胞较少。此时分析人在穿鞋时经常会有提鞋或系鞋带动作，采取胶带粘取或剪取或其他提取方法，会较易获得理想的 STR 分型。

微量 DNA 的载体在日常的案件中往往是千奇百怪、大小不一的，而检验人员需要通过不断积累经验、开拓思维，探究不同载体上最有可能遗留 DNA 的确切部位，正确选取有效提取部位，进而为一击即中的检验出有效 DNA 坚定了坚实基础。

【参考文献】

[1] 郑秀芬. 法医 DNA 分析 [M]. 北京：中国人民公安大学出版社，2002：37-44.

两种 STR 分型软件的比较

师文远，钟增清，张志宏

（福建省厦门市公安局刑事科学技术研究所，361001）

目前，法医 DNA 检验常用是主要是 STR 检验，而对结果数据进行分析得出正确的 STR 分型是检验过程的重要步骤，也是 DNA 检验质量与效率的制约因素。对法医 DNA 分析软件原理的正确理解、熟练应用以及丰富的使用经验是获得正确结果的基础。就目前来讲，法医 DNA 领域应用最广泛的两种软件为 GeneMapper 与 GeneMaker，前者又不断升级与完善，后又发展到 ID-X（V1.0 到 V1.5），两者基本原理相同，但经过笔者多年对两款软件使用，二者又存在不同特点，在此把二者做一比较。

1 两种软件的基本介绍

GeneMapper 软件是美国生物应用公司（Applied Bio）开发的一款 STR 分型软件，其整合了之前开发的 Genescan 与 Genotyper 两款软件，使得法医 DNA 数据分析变得更加便捷和准确，是一款划时代意义的软件，但该软件也存在缺少质控，无法网络共享结果等多种缺点。随后该公司又推出专家辅助分析系统（ID-X），完善了网络共享，质量控制、混合斑分析等诸多功能，使该软件成为目前法医 DNA 分析中应用最广泛的软件。目前，该软件已升级至 V1.5 版本。

GeneMaker 软件是 SoftGenetics 公司开发的一款 STR 分型软件。SoftGenetics 公司是全球生物信息软件和服务的领头企业，公认商业化 DNA 测序系列软件的市场领导者。在国内，海华鑫安公司将其嵌入在其 LIMS 系统中，其与 LIMS 系统共用后台数据库，不再另安装数据库软件。这也造就了它的最大特点：首先该软件小，V1.9 版本安装文件只有 15M 多；其次其与 LIMS 系统实现无缝衔接，能够对结果数据自动上传分析，分析结果自动上传入库等功能。但因这款软件与 LIMS 系统一同销售使用，一般在没有安装 LIMS 系统的实验室，使用者较少。

2 两种软件其本构架与分析原理

GeneMapper 软件是后台是一个 Oracle 数据库，其分析数据、分析方法、Panel&Bins 等均存放在该数据库中。目前，多数 DNA 实验室用的是其单机版，即使现在 ID-X 版本已支持网络客户端，但还需另外购买客户端程序和注册码，所以网络用户应用者较少。同时，因为 Oracle 数据库容易与其他程序平台产生冲突，数据库服务占用系统资源较大，所以也造成了该软件安装不易，使用过程中也容易出现数据库连接不上的问题，而一旦出现问题，会导致此前未备份的分析数据极易丢失。

GeneMaker 软件只是一个分析工具，没有自己的数据库，其分析方法、Panel&Bins 等存在相应的程序文件夹内，分析数据存在 LIMS 后台数据库，其分析数据随 LIMS 数据一起进行备份。即使分析

软件损坏，出现问题，只需重新安装配置，分析数据不易丢失。

该两款分析软件的原理相似：首先利用内标数据建立线性回归方程，再通过方程计算已出峰位置的大小，即 STR 片段的长度。其次根据等位基因分型标准物（Ladder）峰值来调整软件 Bins 的位置，从而保证在不同实验仪器和条件下对同一检测样本得到的结果具有可比性。最后利用 Bins 数据与峰的大小进行匹配，即可准确得出 STR 分型结果。但二者也有细节上的区别：GeneMaker 软件在每一个 Project 中均保存自身需要 Panel&Bins，并根据情况调整 Bins 的位置，且这并不对该软件中原始的 Panel 造成影响。而 GeneMapper 调整 Bins 的位置会在软件数据库内保存下来，这将会对以后数据分析造成影响。

3　两种软件的优缺点

在软件构架方面，GeneMapper 软件最大特点是其后台数据库，这即是其优点也是其缺点，因为有数据库管理，分析数据能得以批量保存，方便查找。但是在同时，因其后台数据库较大，导致其对计算机安装环境要求较高，ID-X V1.5 要求安装环境 win7 64bit，内存 8G 才行。且 Oracle 数据库容易与其他软件平台冲突，数据库容易链接不上，从而导致未备份分析数据丢失。而 GeneMaker 软件只是一个数据分析工具，所有分析数据均存在 LIMS 后台服务器上，数据能够及时备份，防止丢失。

在质量控制方面，早期 GeneMapper 软件重视不足。经验不足实验人员在运用该软件时容易出现分型错误，甚至整批分型错误。但在 ID-X 中已得到有效改善，分析人员能根据实验室自身情况设定阈值来控制质量。利用软件管理员设定峰宽、Stutter 峰、杂合子的比值等，同时也可以进行混合斑分析，控制样本和比对百分比设定，同批分析样本之间比对等，功能大大加强。另外，其也可通过网络来实验分析数据的共享，使同一实验室可以远程审核数据。相比 ID-X，GeneMaker 在质量控制手段方面就显得有简单少许，但是基本的质控手段还是有的，如阳性对照，stutter 峰，杂合子百分比，同批样本比对等。

综上所述，二者各有优缺点。ID-X 在质量控制方面功能强大，而 GeneMaker 在自动分析，数据保护方面具有优势。

4　两种软件的应用感受

经过多次使用两款软件，给人的感觉是 GeneMapper 软件（ID-X）设置较为复杂，质控手段多样，操作也更需专业，适合对数据进行更加专业地分析。而 GeneMaker 更加小巧精悍，质控手段也可满足要求，数据保存安全，更加适应大规模的自动化分析。

【参考文献】

[1] GeneMapper ID Software 3.0 User's Manual，Rev. B [EB/OL]. www. appliedbiosystems. com，2002. 9.

[2] GeneMapper ID-X Software Version 1.0 Getting Started Guide，Rev. A [EB/OL]. www. appliedbiosystems. com，2007. 10.

[3] GeneMaker [EB/OL]. Http：//www. softgenetics. com/GeneMaker. html.

[4] 孙辉，刘冰，季安全，等. 法医 DNA 片段分析软件的研究与应用 [J]. 警察技术，2014（1）：15-17.

法医 DNA 数据分析常见问题

师文远，吴道辐，张志宏

（福建省厦门市公安局刑事科学技术研究所，361001）

目前，法医 DNA 数据分析主要是 STR 分型分析，DNA 结果数据是否能通过相应的分析软件分析得出正确的 STR 分型，是 DNA 检验过程中最重要的步骤之一。而对分析软件原理的正确理解、熟练应用以及丰富的使用经验是获得正确结果分型的基础。现阶段全国公安机关 DNA 实验室建设突飞猛进，实验人员对分析软件使用不熟练，经验不足，很容易造成数据分析结果错误。笔者认为，有必要将法医 DNA 数据分析中常见问题进行总结归纳，以使实验人员在对数据分析时提高警惕，避免相应问题发生。

法医 DNA 数据分析主要是 DNA 片段分析，常用软件主要有 GeneMapper、ID-X、GeneMaker 等，分析原理都相同，所用方式大同小异。首先利用已知内标数据建立线性回归方程，利用方程计算出峰位置的大小，即 STR 片段的长度。其次根据等位基因分型标准物（Ladder）峰值来调整软件 Bins 的位置，从而保证在不同实验仪器和条件下对同一检测样本得到的结果具有可比性。最后利用调整后 Bins 位置与出峰位置的大小进行匹配，即可准确对 STR 片段进行分型。而在日常有的法医 DNA 数据分析中，造成分型结果的错误原因通常有以下几个方面：

1　内标标记问题

内标是已知大小的 DNA 片段，在进行基因荧光分析中往往被标记为与其他引物不同的颜色。它与 DNA 样本混合并同时电泳，再通过内标建立回归方程来推算未知样本 DNA 片断大小。常用分析软件均有内标质量检测（Sizing Quality Assessment），常见的内标质量不合格主要由以下几种原因：

1.1　DNA 样本浓度太高，容易造成出现 Pull up 峰或 Pull down 峰

数据分析时，软件不能区分正常峰值与 Pull up 峰或 Pull down 峰，从而将内标片断大小值标记在 Pull up 峰上或错过 Pull down 峰不标记，从而导致分型错误。此种错误比较隐蔽，不容易发现，数据分析时应对峰值过高的样本应特别注意。此种情况可以通过对内标手动标记或对 DNA 样本稀释后重新电泳予以纠正。

1.2　内标峰值太低

常见原因是内标量过低，分析软件不能识别。通常可以通过降低内标荧光分析阈值来修正。如果内标峰值过低，通过修正软件参数仍不能分析，只能重新加样，增加内标量重新电泳予以纠正。

1.3　随着电泳时间延长，结果峰型逐渐过宽过低，导致分析软件对内标峰型不能识别为有效峰

此种情况多由于在电泳缓冲液长时间未更换，过期较久或者毛细管阻塞等情况导致。可通过更换缓冲液、电泳胶或者毛细管后重新电泳予以纠正。

1.4　内标未电泳完全，导致分析软件中标准分子片段数量与内标数量不匹配

这种情况多见于电泳室内室温过低，电泳中 DNA 样本移动速率过慢，在设定的时间内不能完成电泳导致。解决方法主要是通过升高室温，或许增加电泳时间方法，使内标峰值全部检出。也可以解除内标质控后手动重新标记内标值，重新分析数据予以解决。

2 分析方法设置问题

数据分析软件的设置相对比较复杂，常用参数设置主要为分析参数设置和质控参数设置。常见问题主要有以下几种：

2.1 等位基因设置不对是最常出问题的地方

当分析不同的试剂盒电泳数据时，分析软件经常出现提示分析方法设置错误，其主要原因是改变不同试剂盒时，只在分析软件更改 Panel 而未在分析方法中更改相应 Bin。此种情况可通过对不同试剂盒设置不同的分析方法，在更改试剂盒时分析时同时更改分析方法即可以避免出现类似错误。

2.2 峰检测器设置内主要出问题的在峰检测范围及峰检测阈值设置方面

峰检测范围在荧光单位设置应包括全部内标范围。而峰检测阈值设定不能过小，一般不低于 50，如果设置过低容易将 stutter 峰认定为正常峰，从而出现分析错误的情况。尤其是在 GeneMapper 分析软件中，由于对质控参数不能进行有效设置，分析时会因为峰检测阈值过低导致 ladder 分型出现错误，从而导致整批数据在某个基因座上出现分型错误的情况。此种情况可以通过对阳性对照的核查来发现，以避免发生大批分型错误的发生。

3 等位基因分型标准物（Ladder）问题

等位基因分型标准物（Ladder）峰值的应用的主要目的是使得不同实验仪器和条件下对同一检测样本得到的结果具有可比性。而在数据分析中，ladder 出现错误的情况是比较常见的，但也最为隐蔽，常常难以发现。

3.1 忽视分析软件的 ladder 质控报警

在 ID-X，GeneMaker 等分析软件中，均有完善的 ladder 质控，如果在软件质控报警的情况下，仍然要进行分析，往往会发生分型错误。如果发生 ladder 的质控报警，就应该认真核对 ladder，查找原因，在保证 ladder 正确的情况下分析数据，才能减少错误的发生。

3.2 电泳时加入 ladder 错误

此种情况多发生在不同试剂盒之间 Ladder，或者试剂盒的不同批次之间。前者多是由于加样时没有认真核对而导致，后者多发生在国产试剂中，多是由于试剂盒升级而导致 ladder 片断大小改变而对客户未及时告知，导致实验人员将不同批次 ladder 混用，从而导致不能正常分析或分析错误。建议加样前对 ladder 名称、批次应核对清楚，同时，对不同试剂盒应分别保装，以避免混用。同时应加强对阳性对照分型的审核，以便对错误及时发现，及时改正。

4 Panel&Bins 问题

Panel&Bins 是数据分析的基础，主要由试剂盒厂家根据自身开发的试剂盒提供，不同的 Panel&Bins 适应不同的试剂盒。在数据分析时，Panel&Bins 须与现用试剂盒相对应。因 Panel&Bins 错误而导致分析错误主要是由于分析软件中 Panel&Bins 与试剂盒不符导致的。试剂生产商根据反馈升级改善试剂时，一般会同时更新 Panel&Bins。这其中，最常更新的是国产试剂盒厂商，如果相应的技术服务未跟上，就会出现分析错误的情况。建议国内试剂盒厂商做好技术支持的同时能与实验室技术人员沟通好，使其及时掌握试剂更新信息。同时，若是实验室开始启动新批次试剂盒，一定及时清理封存旧批次试剂，并导入相应的 Panel&Bins，调整分析参数，避免发生分析错误的情况。

法医 DNA 数据分析是法医 DNA 检测的最终环节，也是关键环节。数据分析中出现的错误千差万别，并不只是上述那几种。如何能在数据分析中发现问题，避免错误，已成为制约 DNA 检验质量与效率的重要因素。笔者通过对上述几种常见的问题进行归纳总结，就是希望实验人员能够提高警惕，

总结经验，避免数据分析错误。

【参考文献】

[1] 孙辉，刘冰，季安全，等. 法医 DNA 片段分析软件的研究与应用［J］. 警察技术，2014，1：15-17.
[2] GeneMapper ID Software 3.0 User's Manual，Rev. B［EB/OL］. www. appliedbiosystems. com，2002. 9.
[3] GeneMaker［EB/OL］. Http：//www. softgenetics. com/GeneMaker. html.

大体系直接扩增法提取接触性 DNA

陈翰通，程　冲

（福建省泉州市公安局刑侦支队，362000）

直接扩增法是将未经过前处理样本直接加入 PCR 反应体系并获得扩增产物，具有快速、高效的特点，在违法犯罪人员 DNA 数据库建设中得到广泛的应用后，在法医现场生物物证的检验方面也相继得到拓展运用。接触性 DNA 检材，是指通过皮肤接触而将 DNA 物质遗留在客体上形成的 DNA 检材，因其 DNA 含量少、污染严重、PCR 抑制物多而成为法医 DNA 检验的难点之一，棉签擦拭法因其操作方法便捷、简单，成为目前勘查人员最常使用的接触性 DNA 收集方法。笔者采用大体系直接扩增法对接触性 DNA 检材进行了研究检验，获得较好结果，现介绍如下，供同行参考。

1 材料与方法

1.1 样本

本实验室日常受理的棉签擦拭物 20 份，其中有明显斑迹的 10 份，无斑迹的 10 份。

1.2 仪器和试剂

9700 型扩增仪（AB 公司）；3130XL 型测序仪（AB 公司）；Identifiler Plus 试剂盒（AB 公司）。

1.3 方法

1.3.1 检材处理

分别剪取适量的棉签擦拭物于扩增管中等待扩增。

1.3.2 DNA 扩增及产物检测

采用 Identifiler Plus 试剂盒在 9700 型扩增仪进行 PCR 扩增，扩增体系为 30~50μL（视剪取棉签大小而定），扩增参数参照 Identifiler Plus 试剂盒操作手册。取上述 PCR 扩增产物经 3130XL 型测序仪电泳，结果用 GeneMapper ID v3.2 软件进行分析，获得等位基因分型图谱。分析每个样本的基因图谱，进行数据分析

2 结果

经过上述步骤，采用大体系直接扩增法提取接触性 DNA 检材棉签擦拭物的结果如下：（1）有斑迹的棉签擦拭物 10 份，有 3 份能够获得完整的 STR 分型，1 份获得不完整的 STR 分型，6 份无结果；（2）无斑迹的棉签擦拭物 10 份中，有 2 份能够获得完整的 STR 分型，8 份无结果。

3 讨论

DNA 的提取过程因经过裂解、结合、洗涤、洗脱等多个步骤，会造成模板 DNA 的大量损失，本实验是将接触性 DNA 直接转移到 PCR 管进行扩增，省去了 DNA 提取环节，检验步骤简化，一

定程度上减少了外源性 DNA 的污染。目前商品化试剂盒在 PCR 反应液中添加了 PCR 反应抗抑制剂，可有效抑制各种金属离子等对 PCR 反应的抑制。实验室采用直接 PCR 技术，可以提高接触性 DNA 检测的灵敏度，但能否成功获得完整的 STR 检验结果，还取决于样本中是否含有 PCR 抑制物，对于抑制物较多的检材最好还是经过 DNA 提取及纯化的过程，尽可能去掉对后续扩增有抑制作用的成分。

法医物证常见的接触性 DNA 检材一般为上皮脱落细胞或表皮细胞，肉眼不可见，实验室由于种种限制无法实现对接触性 DNA 的定量，时常陷入盲检的被动局面，由于对是否提取到含有细胞核 DNA 的有效细胞以及其含量是未知的，每次都是经过一系列的实验过后才能得到结果，既耗时又耗试剂。从微量生物检材中提取到接触性 DNA 很大程度上取决于是否能更好地从微量生物检材中收集到更多的接触性 DNA。国内实验室对于接触性 DNA 的直接扩增检验大多采用 10μL 或 25μL 的扩增体系，对于棉签擦拭物，难以凭经验控制剪取的体积，采用标准的扩增体系可能覆盖不了检材。本实验通过采用大体系的扩增体系，增加了模板 DNA，提高了检验成功率。

【参考文献】

[1] 张艳霞，李爱强，等．直接扩增法用于常见现场检材 DNA 检验［J］．中国法医学杂志，2012，27（1）：39-47．

[2] 哈飞，孙红兵，等．现场生物检材 Identifiler Plus 直接扩增方法的应用研究［J］．中国优生与遗传杂志，2003，21（12）：33-34．

[3] 郑秀芬．法医 DNA 分析［M］．北京：中国人民大学出版社，2002，25（2）：39-47．

3130XL 遗传分析仪污染三例分析

刘　超[1]，王　玉[2]，吴德清[1]，王　芳[1]，陈佳林[1]

（1. 福建省晋江市公安局刑侦大队，362200；2. 福建明鉴司法鉴定所，362200）

DNA 污染是指生物物证检材在提取或检验过程中混有外源 DNA。随着 DNA 技术的不断发展，检测灵敏度不断提高，DNA 污染问题越发引起国内外学者关注。本实验室自 2015 年 1 月运行至今，分别在同年 5 月和 7 月发生三次因 3130XL 遗传分析仪（以下简称 3130XL）产生的交叉污染情况，该类污染少见报道，由于污染样品的 STR 分型与低拷贝数分型（LCN）相似，易被误判而产生严重后果。笔者就本实验室观察到的污染情况进行阐述，分析原因，采取措施，希望能引起同行的关注和重视，有效地发现和预防此类污染。

1　案例资料

案例 1：2015 年 5 月 12 日张某某被杀案，死者手指上血迹擦拭物（同板孔号 G08，毛细管号 13）比中 2015 年 5 月 13 日柯某某被盗案中的五角硬币（同板孔号 G10，毛细管号 13）。

案例 2：2015 年 7 月 4 日周某被杀案，现场提取的地面血迹（同板孔号 G04，毛细管号 13）比中 2015 年 7 月 6 日袁某被盗案中现场提取的足迹擦拭物（同板孔号 G06，毛细管号 13）。

案例 3：2015 年 7 月 23 日王某某被盗案，现场提取的烟头（同板孔号 D07，毛细管号 6）比中 2015 年 7 月 22 日柯某某被盗案中电脑电源线擦拭物（同板孔号 D09，毛细管号 6）。

上述三例污染和被污染的样品具有以下特点。第一，被污染样品为 DNA 含量多的检材，污染样品为 DNA 含量少的微量检材；第二，被污染样品与污染样品均为同板分析且对应的毛细管孔号相同，二者基因分析（跑样）有先后顺序（先分析被污染样品再分析污染样品），污染与被污染样品 STR

分型相同，且污染样品 STR 无法重现（见图 1-3）；第三，被污染样品相对荧光强度值较高（RUF≥8000），而污染样品较低（RUF≤100），二者峰型一致，均无丢带（见图 1～图 2）。

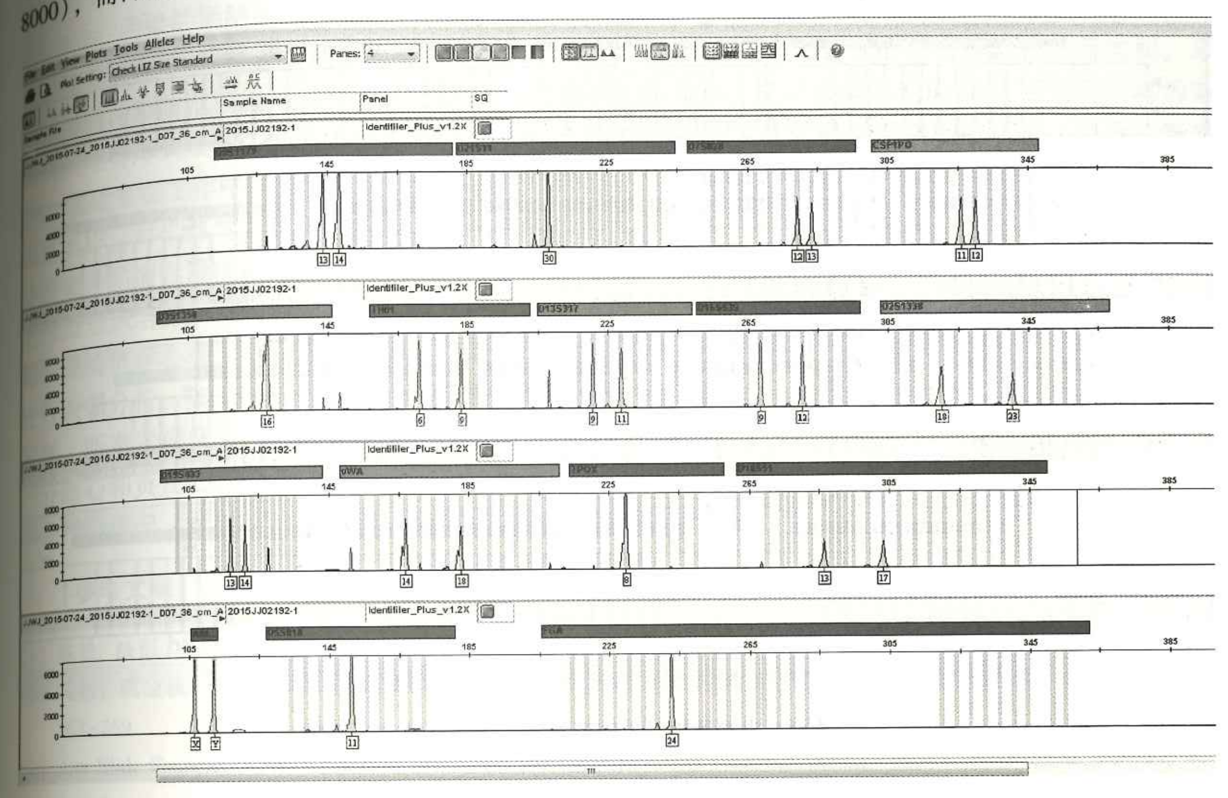


图 1　案例 3 烟头获得的 STR 分型

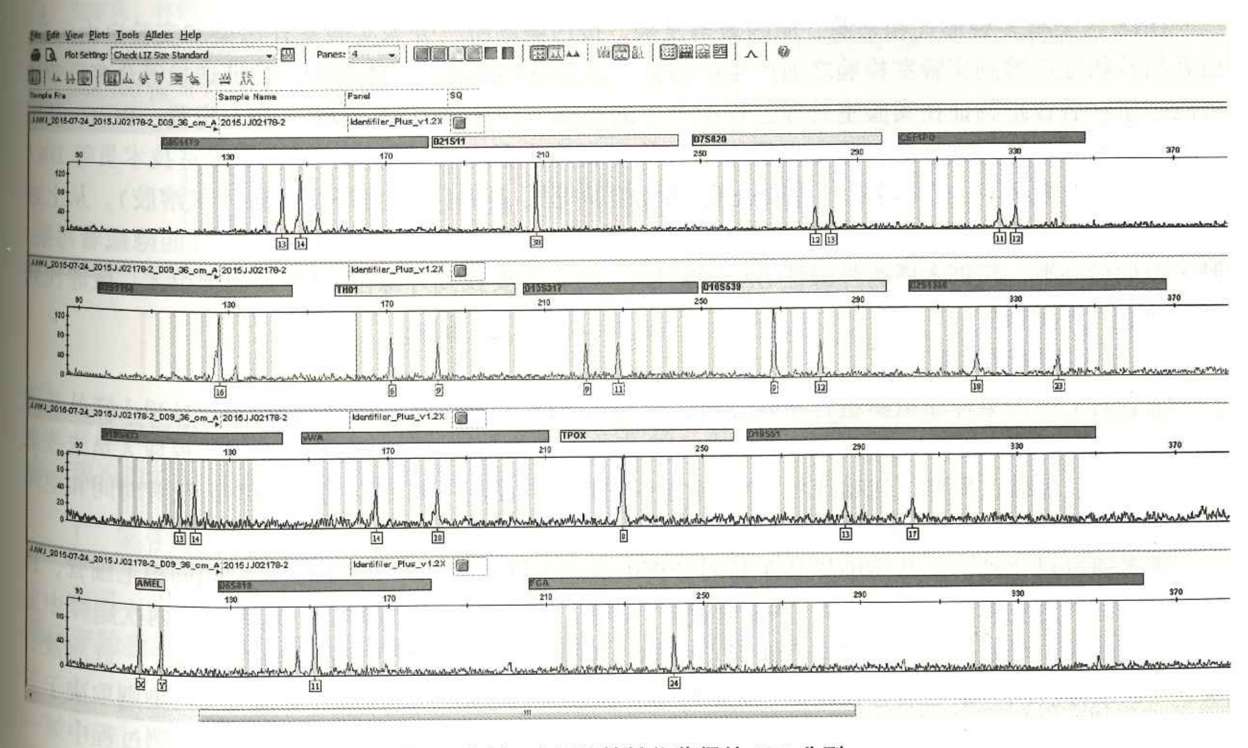


图 2　案例 3 电源线擦拭物获得的 STR 分型

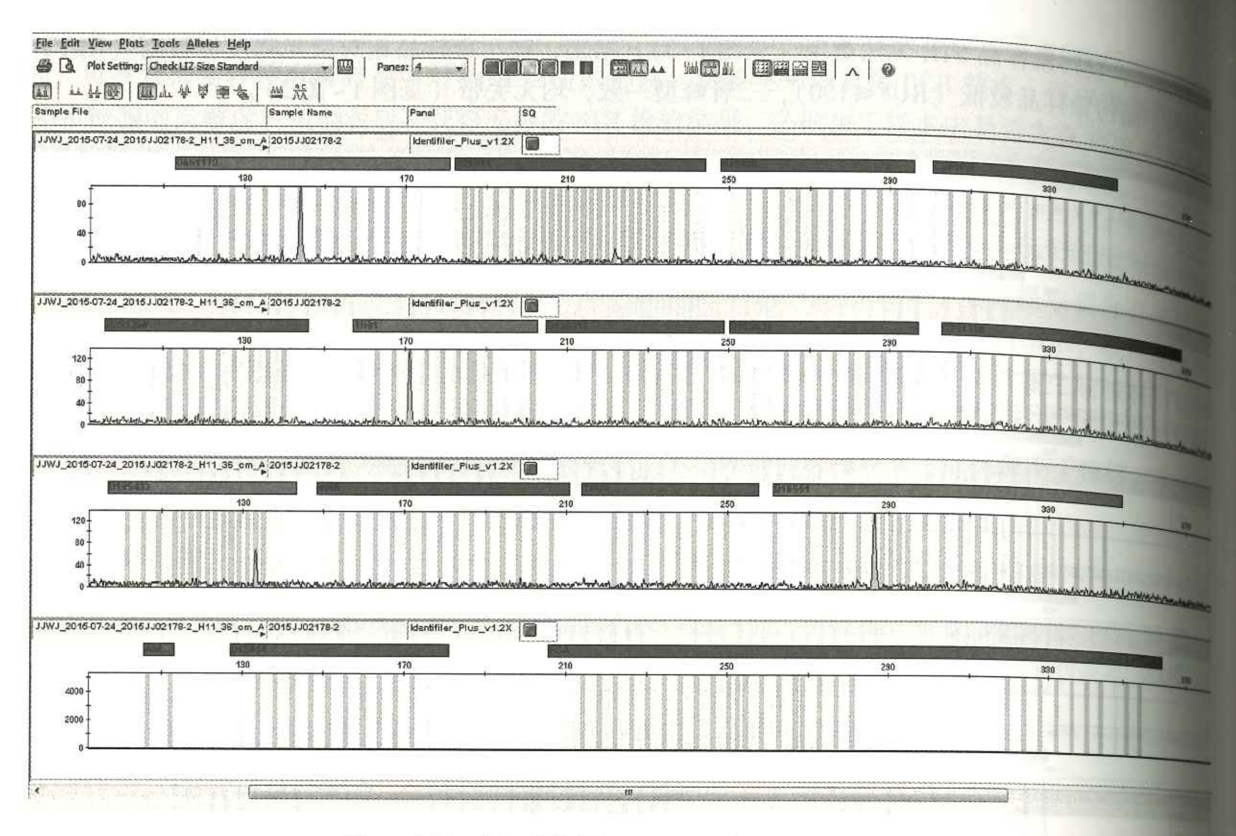


图 3　案例 3 电源线擦拭物重新跑样未获得有效 STR 分型

2　讨论

DNA 污染有多种形式和来源，原因繁多复杂。按污染场所，分为实验室外污染和实验室内污染。前者指从物证送检到实验室检验之前产生的污染，其在现场提取、尸体解剖、物证送检等众多环节均可能产生；后者指物证在实验室处理过程中产生的污染，存在于 DNA 提取、DNA 定量、PCR、基因分析等过程中。按污染来源，分为人员污染（物证提取人员/实验耗材生产员/实验室技术员等 DNA 检验链上有关人员）、交叉污染（提取送检/物证检验等）、DNA 实验室环境污染（气溶胶）。从上述分类我们可以看出，污染是无孔不入的，DNA 检验链上的每个环节、每个步骤都可能隐藏着污染。但无论如何分类，污染本质为外源性 DNA 的引入，我们只要找到外源性 DNA 如何被引入，就能找到污染原因，进而预防。

2.1　污染原因分析

笔者对上述污染样品重新进行基因分析，未检出 STR 分型，从而确证污染是在 3130xl 样品基因分析中产生的，应属于非人为所致样品间的交叉污染。交叉污染常被认为是由于物证提取人员未按规范进行提取、包装、保存、送检或者 DNA 检验中同批次样品间不同 DNA 量级的物证没有时间和空间上的有效隔离，而发生样本或样品间的污染，为人为所致。

笔者通过对比被污染及污染样品在基因分析中的毛细管号和孔号，发现二者共用同根毛细管，且两次跑样有一定规律，均是先上样 DNA 含量多的样品，随后上样微量样品，笔者认为两次跑样中发生了二次转移，可能是前一次跑样毛细管管壁 PCR 残留物未被清洗干净或遗留在胶盖上，进而被引入下一次上样。同一根毛细管在跑样中先后吸取不同的样品，这个过程是否发生交叉污染则取决于下一次上样前仪器自身能否将上一次残留物有效清除，使其低于仪器检测下限。3130xl 检测过程中第一次上样与下一次上样间有若干步骤，依次为样品上样→水洗→电泳→灌胶→水洗→样品上样，这些步骤中均要通过胶盖来初步清理毛细管壁上的 PCR 残留物，而清理过程中，这些残留物也可能附着在

胶盖上，随着下一次跑样而发生样品间的交叉污染。笔者还发现这类污染（同一根毛细管在前后两次跑样中产生的交叉污染）仅发生在本实验室运行初期，考虑为新仪器磨合期产生的污染。

2.2　污染的预防措施

随着法医 DNA 检验灵敏度的提高，DNA 污染出现的可能性及其造成的危害程度都显著增加，采取适当的污染防范措施可以有效降低 DNA 污染发生的可能性，及时监测和发现 DNA 污染可以将污染造成的危害降到最低。本文报道的污染系新实验室 3130xl 新机器在磨合期产生的污染，因此，新建 DNA 实验室在工作中应更加注重预防。笔者建议以下几点。第一，通过合理规划实验室布局和分区，规范操作，对机器常态维护和清洁，更换老化破损配件耗材，建立 DNA 质控库，设置对照样品，用传统紫外和消毒液消毒等技术防范措施来预防。第二，人防和技防同等重要，应更加注重技术人员的防污染意识培养。树立以人为本的防污染意识，将污染防控规范操作融入日常检验鉴定工作中。打消每一次的侥幸心理，才是最有效的预防。第三，实验室应采用具有同板样品比对功能的分析管理软件进行数据分析，如 ID-X，I3 等。本实验室当时采用 GeneMaper 3.2 版本，以致污染样品被比中后才发现，所幸发现及时，没有对检案工作造成重大影响。第四，遇到不符合常理的检验结果，一定要多一分耐心和责任心，全方位多角度分析，排查污染。总之，当实验室发生污染时，一定要做好记录，串并污染情况，及时找出污染原因并清除污染，确保结果准确。

【参考文献】

[1] 陈松. 法医 DNA 实验室的 DNA 污染和防范 [J]. 刑事技术，2007 (5)：16-20.

[2] 马妍，匡金枝，朱巍，等. 法医 DNA 实验室污染问题分析与对策 [J]. 中国法医学杂志，2014，29 (4)：263-269.

[3] Ane Elide Fonnelop，Thore Egeland. Secondary and subsequent DNA transfer during criminal investigation. Forensic Science International：Genetics，2015，48 (3)：183-190.

[4] 庞宏兵，林锦锋. 法医 DNA 污染的原因分析及对策 [J]. 中国法医学杂志，2013，23 (6)：531-532.

[5] Gill P.，Whitaker J.，Flaxman C.，et al.. An investigation of the rigor of interpretation rules for STRs derived from less than 100 pg of DNA [J]. Forensic Sci Int，2000，112 (1)：17-40.

DNA 检验胎盘一例

张　竹，江先长

（福建省龙岩市公安局刑侦支队，364000）

在性犯罪案件中，提取人工流产术取出的绒毛组织、胚胎组织或胎儿作 DNA 检验的案件报道较多，现报道检验胎盘排除犯罪嫌疑人的案件一例。

1　案例资料

陈某，女，13 岁，某年 5 月在公园内被一网友强奸，同年 9 月 21 日在医院实施人工流产术，提取流产胎盘组织、陈某及犯罪嫌疑人郑某血样进行 DNA 检验。

2　检验与结果

送检的胎盘组织呈圆盘状，直径 11cm，脐带长 5.5cm、直径 0.8cm。胎儿面朝上平铺放置（见图 1），分别提取二条脐动脉内液体、二条脐动脉结缔组织、脐静脉结缔组织、脐带结缔组织、脐

带附着处组织、胎盘表层组织（距中央 4.5cm、距边缘 1.5cm、距脐带附着处 3.5cm）、胎盘中央羊膜下组织、胎盘羊膜下脐血管内液体、胎盘边缘近脐带附着处白色组织；母体面朝上平铺放置（见图 2），分别提取近脐带附着处的表层及深层胎盘小叶组织、胎盘中央的表层及深层胎盘小叶组织。

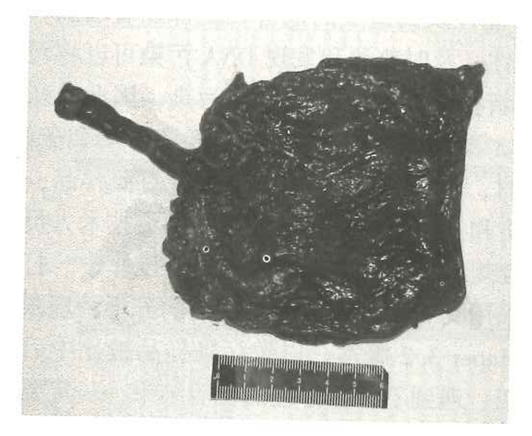


图 1　胎盘胎儿面



图 2　胎盘母体面

用聚苯乙烯二乙烯基苯树脂法提取 DNA，用 ID-Plus 试剂盒扩增，扩增产物用 3500xL 测序仪进行检测分析，结果显示：胎盘母体面近脐带附着处的表层胎盘小叶组织、胎盘母体面中央的表层胎盘小叶组织检出母体+胎儿混合 STR 分型，其余提取部位均为单一胎儿 STR 分型，排除与犯罪嫌疑人郑某具有单亲关系（见表 1）。

表 1　流产胎盘组织与陈某、郑某血样的 STR 位点基因分型

检材编号	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539
胎盘组织	11/13	30/33	10/11	12/13	16/17	7/9	8/10	9/10
陈某血样	11/14	29/33	9/10	11/12	16/17	7	10/12	10/11
郑某血样	14/15	28/30	8/10	10/12	15/18	6/9	8/10	9/11
胎盘组织	20/23	13/15.2	17	11/12	13/15	10/11	20/22	X/Y
陈某血样	19/23	13/14	14/17	8/12	13/18	10/11	20/26	X
郑某血样	21/24	14/15.2	14/19	8/11	13/14	10/12	22/23	X/Y

3　讨论

近年报道了较多检验早期流产胚胎的案例，妊娠 10 周内要求终止妊娠的通常适用负压吸引术，但手术吸出物中胎儿成分常遭到破坏，且与母体子宫内膜成分混在一起，不易分辨，因而提取到单一胎儿 DNA 的关键在于如何从人工流产术后的引产物中准确定位胚胎组织。文献报道的方法是先将胚胎组织上的血污冲洗净，充分展开于装有纯水的容器中，观察水中漂浮的呈分叶状的绒毛膜组织，剪取颜色偏白的膜状组织。本案受害人妊娠 16 周左右，孕期较长，经钳刮术（妊娠 10~14 周）取得了较完整胎盘、脐带，但未取得胎体，可能是术中为取胎体出子宫颈管而破碎得较严重。

了解胎盘的组织来源，可以帮助 DNA 检验人员从本质上理解和运用胎盘检出单一胎儿 STR 分型。胎盘由胎儿的丛密绒毛膜和母体的底蜕膜紧密结合而成，胎盘的胎儿面光滑，表面覆有羊膜，透过羊膜可见脐血管的分支由脐带附着处向四周呈辐射状走行，胎盘的母体面粗糙，是剥离后的底蜕膜。①羊膜，由二胚层胚盘（第 2 周）的一层上胚层细胞分化形成。②丛密绒毛膜，实为与底蜕膜相邻的血供充足而生长茂盛的绒毛膜，绒毛膜由滋养层和衬于其内面的胚外中胚层发育而来，而滋养层又源于胚泡（第 4 天）周围的单层细胞。③胚泡植入后，子宫内膜的功能层称蜕膜，它将在分娩时脱落。蜕膜分为底蜕膜、包蜕膜、壁蜕膜三部分，其中底蜕膜为胚泡与子宫肌层之间的蜕膜，它将随着胚胎的发育而不断扩大、增厚，参与胎盘的形成。④胎盘小叶，绒毛膜的末端以细胞滋养层壳固定于底蜕膜上，从底蜕膜上发出若干楔形小隔伸入绒毛间隙中，称胎盘隔，胎盘隔将胎盘分隔成 15~30 个胎盘小叶。母体血和胎儿血在绒毛间隙进行物质交换。⑤脐带，表面覆有羊膜，内有胚外中胚层分化来的黏液性结缔组织，退化的卵黄囊、尿囊，还有尿囊动、静脉演变来的脐动、静脉。

与一般人以为胎盘来源于母体的认识相反，经多处 DNA 检验和胚胎学发生的相互印证，人流术后取出的胎盘是检出胎儿基因分型的重要来源组织。其表面覆着的羊膜、胎儿面绒毛膜组织、母体面胎盘小叶的深层组织、脐动、静脉内液体及脉管自身均由受精卵发育而来，能够检出单一胎儿 STR 分型；母体面表层底蜕膜检出母体+胎儿混合 STR 分型。

【参考文献】

[1] 乐杰. 妇产科学 [M]. 北京：人民卫生出版社，2008：373.
[2] 林添春，张晓宇，等. 13 例强奸致孕胚胎、胎儿 DNA 检验的分析 [J]. 法制博览，2015，9（中）：162-163.
[3] 符晶，罗宗凯，等. DNA 检验早期胚胎组织破获强奸案 1 例 [J]. 中国法医学杂志，2007，22（5）：346-347.
[4] 石玉秀. 组织学与胚胎学 [M]. 北京：高等教育出版社，2007：221-238.

改良骨骼 DNA 提取方法

易志强，熊健思，刘钧剑
（江西省萍乡市公安局刑警支队，337000）

1　材料与方法

1.1　骨片制备（骨密质提取法）

用纯水清洗骨骼表面后用手术刀片刮除表面黏附组织及杂质，用纯水洗去骨粉。自然干燥后，用鸟刨将长骨刨取厚约 0.5mm 小骨片。

1.2　提取及检验

（1）取刨下的骨密质 3~5g，放入 15ml 离心管中，加满 EDTA，将离心管置于翻转摇匀仪上约 30min 至骨片在离心管内呈悬浮状。脱钙结束后，尽量将 EDTA 除尽（离心或挤干），将脱钙后的骨片转移至另外一 15ml 离心管中。向离心管中加入 1ml 骨骼孵育液（Promega 公司）、100μL 蛋白酶 K，100μLDTT，56℃水浴过夜。

（2）将消化后的液体离心后取上清液，并加入三倍体积 MTL 及 20μL 摇匀的 M48 磁珠，置于翻转摇匀仪上室温保温 30min。混匀后将离心管放在磁力架上，弃去上清液，用 600μLMW1 溶液分三次将管内磁珠转移至 1.5ml 离心管中。加入 600μL 的 80%的乙醇溶液，摇匀样品溶液，放在磁力架上，弃去上清，重复该步骤 1 次。最后一遍洗涤后去除所有洗涤液。将离心管放入 65℃加热块中烘干。烘干后加入 30μL 纯水，65℃加热 10min，期间震荡 2~3 次。取出离心管，放入离心机 13000rpm 离心 3min，吸取上清液为模板 DNA。

（3）取上述获得的 DNA 提取液 1μL 作为模板，用 Identifiler Plus 试剂盒进行 PCR 复合扩增（10μL 体系），其中含 PCR 反应混合物 4μL，引物 2μL，去离子水 3μL。产物在 AB3130XL 型遗传分析仪检测后分析。

2 讨论

骨骼 DNA 检验成功的关键在于样本前期制备，因骨密质 DNA 含量较低，操作不当极易造成污染或无法得到基因分型。传统的有机溶剂法因为有机溶剂对人体有毒性，现已基本不用。硅膜法则前期制备骨粉过程较为繁琐，需用次氯酸钠多次浸泡，乙醇脱水，乙醚脱脂等步骤，且制备过程中骨粉本身容易造成环境污染。硅珠法虽前期制备较为简单，但需三次 12hEDTA 脱钙，使检验时间较长。本文所述方法，前期制备简单，用鸟刨将长骨刨成较薄的小骨片，从而使得脱钙时间大幅缩短，只需 30minEDTA 脱钙即可消化，大幅缩短检验时间，因只需一次短时间脱钙，减少了 EDTA 脱钙过程中的 DNA 损失；在磁珠结合过程中，因液体较多，因此适当延长结合时间，使得结合更为充分；可根据检材情况来调整洗脱体积；在扩增时可采用梯度扩增及平行扩增来确保结果的准确性。

浅谈案件现场手套印、袜印、手套纤维的 DNA 检验

熊克扬[1]，陈　宇[2]，王　炎[1]，张丰收[1]

（1. 江西省九江市公安局刑侦支队，332000；2. 江西省长江航运公安局九江分局刑侦支队，332000）

当今，犯罪分子的反侦察意识增强，往往戴手套作案，现场难以提取到常规生物检材，取而代之的是越来越多手套印、袜印、手套纤维等，检案难度陡升。工作中，笔者通过不断吸收技术先进单位的成功经验，针对手套印、袜印、手套纤维等检材从现场提取、包装、送检、检验过程进行了科学研究，摸索出了一套行之有效的勘查提取、检验鉴定方法。

1 样本与方法

1.1 检材

自 2016 年至 2017 年以来，受理的各案件中提取的手套印拭子 213 份、袜印拭子 125 份、手套纤维 96 份（手套印、袜印均采用棉签两步擦拭）。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取

将检材置于 1.5ml 离心管中，加入 300μLTES、60μLSLS、20μL PK，56℃裂解 1.5h。裂解后，离心 10s，将液体全部吸出转移至另一 1.5ml 离心管中，10000rpm/min 离心 3min，弃去下层沉淀，向上清液中加入 1ml 吸附液（内含硫氰酸胍）及 20μLSiO_2，硅珠法提取 DNA。

1.2.2 扩增

使用 Globalfiler 试剂盒，采用 10μL 体系（4μL 混合物+6μL 模板）在 9700 扩增仪上扩增。

1.2.3 测序与分析

9μLHID + 0.3μL LIZ600+1.2μL 扩增产物，3500XL 型分析仪电泳，GeneMapper ID-X 分析，得到 STR 分型。

2 检验结果

手套印拭子检出单一个体分型 81 份，检出混合分型 95 份，未检出 37 份。袜印拭子检出单一个体分型 25 份，检出混合分型 86 份，未检出 14 份。手套纤维检出单一个体分型 26 份，检出混合 STR 分型 25 份，未检出 45 份。

3 讨论

受传统观念的束缚和以往技术水平的限制，侦技人员认为此类检材不可能检出 DNA。然而事实并非如此，作案用的手套及袜子常常在生活或作案中反复脱戴，与作案人身体各部位或与留有其 DNA 的客体经常接触，表面粘附有少许的脱落细胞；作案时，手套、袜子外表面的脱落细胞二次转移至手套印、袜印中，或戴手套接触粗糙客体时，带有脱落细胞的手套纤维易被刮擦脱落在客体表面。

3.1 此类检材脱落细胞数量极少，减少提取、包装、送检、检验过程中的 DNA 损失是重点

3.1.1 减少现场提取损失

（1）手套印、袜印用普通医用棉签两步擦拭提取。普通棉签相较于尖头棉签有两大特点：一是棉签头较大，擦拭接触面积大；二是棉纤维缠绕呈膨松网状结构。两大特点决定了其吸附、转移细胞的能力强于尖头棉签。（2）纤维应集中收集提取。将一定区域内的多处纤维全部收集于一离心管内。

3.1.2 减少包装、送检损失

（1）纤维直接装入离心管内送检，减少物证带包装带来的损失。（2）手套印、袜印拭子如用物证带包装，应尽量减少移动，如需移动，应轻拿轻放，减少因摩擦、滚动等造成细胞脱落损失。（3）及时送检，减少降解损失。

3.1.3 减少检验损失

（1）及时检验，减少降解损失。（2）减少检验过程中，因液体转移不完全而造成的损失。

3.2 选择合适的扩增试剂盒和测序仪

如本案中使用 Globalfiler 试剂盒和 3500XL 测序仪。Globalfiler 试剂盒是美国 ABI 公司生产的六色荧光标记扩增试剂盒，灵敏度高，非常适合微量检材的检验。3500XL 测序仪相较于 31xx 型测序仪，具有更高的灵敏度，有利于检验。

3.3 手套印、袜印应以室外提取为主，室内提取为辅

室外（如管道、墙壁、窗户等）提取的手套印、袜印，较容易检出犯罪嫌疑人 DNA。这是因为一方面受害人生活中难以接触到这些部位，另一方面受气候（如风吹、日晒、雨淋等）因素影响，人体细胞难以在此长久存留。当犯罪嫌疑人接触这些部位时，较容易检出 DNA。而室内，受害人生活中易接触，且长期在室内生活，其脱落细胞大量飘落至室内各处，故室内手套印、袜印易受受害人 DNA 的影响。故手套印、袜印、手套纤维在攀爬或撬窗类案件中可有广泛应用。

从一例疑难生物检材的检验来谈工具类检材 DNA 的检验

熊克扬[1]，陈　宇[2]，王　炎[1]，张丰收[1]

（1. 江西省九江市公安局刑侦支队，332000；2. 江西省长江航运公安局九江分局刑侦支队，332000）

1 简要案情

2016 年 1 月 21 日，某市一珠宝金行店内价值 6 万余元的玉器首饰、银首饰等物品被盗。经勘查，在现场提取折叠小刀一把（犯罪嫌疑人遗留，已被派出所民警、店主及附近居民多人抓握、触摸）送检。

2 检材提取

经观察、研究，采取分区检验的方案，即将该折叠刀表面按不同部位分为刀柄左侧面上段、中

段、下段，刀柄右侧面上段、中段、下段，刀片左侧面、右侧面，刀柄与刀刃对合处缝隙内共9部分，均用棉签二步擦拭提取，依次标记为1~9号检材。

3 DNA检验

按GA/T 383—2014中硅珠法提取DNA，使用Globalfiler试剂盒在9700扩增仪上复合扩增，扩增产物用3130型分析仪电泳和GeneMapper ID-X软件分析，得到STR分型。

4 结果

（1）1~8号检材均检出多人混合的DNA，无证据和线索作用。9号检材检验出较高浓度的二名男性混合DNA，经多次重复扩增、电泳，得到如下图谱（见图1）。

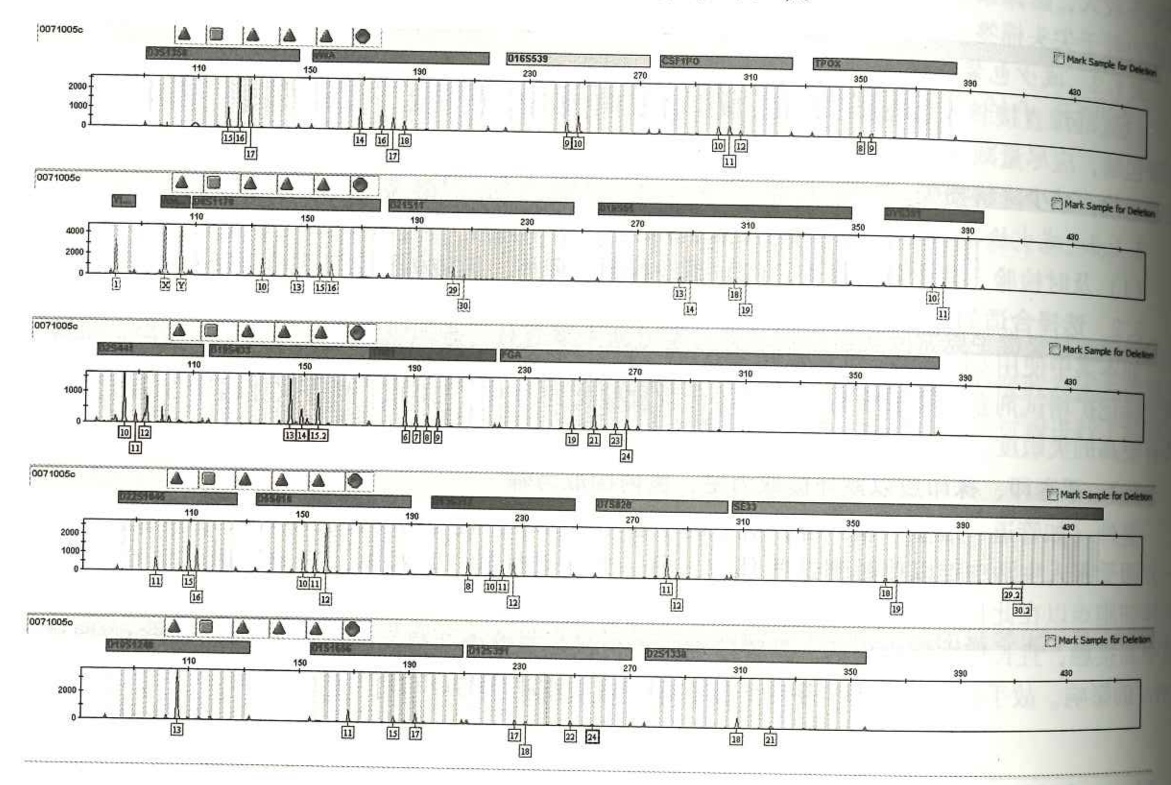


图1 刀柄与刀刃对合处缝隙内DNA分型图谱

（2）该混合DNA虽存在轻微随机扩增，但出峰较稳定，具备拆分条件。通过AMEL、DYS391基因座结合其他常染色体基因座数据分析，可确定该混合DNA应为2名男性混合形成，且为一浓度高、一浓度低。

在D3S1358基因座上，基因型为15/16/17，且16峰最高，17峰次之，15峰最低，确定其中浓度高的男性DNA为16/17。依此类推，可以确定浓度高的男性在CSF1PO基因座为10/11，D2S441为10/12，D19S433为13/15.2，FGA为19/21，D22S1045为15/16，D1S1656为11/17，D12S391为17/22。

在VWA基因座基因型为14/16/17/18，14/16峰最高，17/18最低，可确定浓度高的男性DNA为14/16。依此类推，可以确定浓度高的男性在D18S51基因座为13/18，TH01为6/9。

此外，可判断D21S11为29/29，D7S820为11/11，D2S1338为18/18的可能性较大。

（3）将上述可确定的基因型输入快比平台中，采用匹配下线为9，容差两对进行快比，比中金某喜（见图2），其各基因座数据均可在该混合DNA中找到来源。随后金某喜、汪某金、孙某佳三人被抓获，并缴获大量赃物。

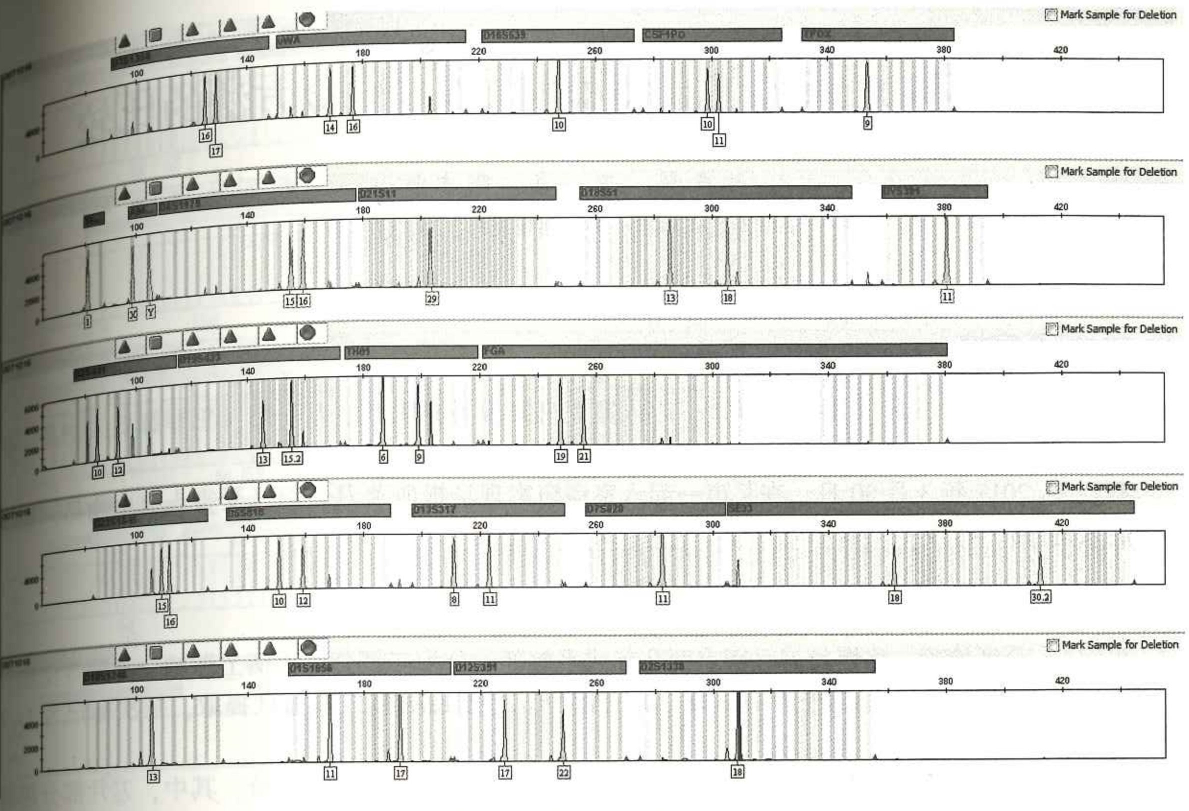


图2 金某喜DNA图谱

5 讨论

工具检材是检案中常见检材，常因犯罪嫌疑人多戴手套，接触人员多，吸附脱落细胞能力弱等原因，致使检出率较低，即使检出也常为混合DNA，无证据和线索作用。如何让此类检材在侦查破案中发挥重要作用，是当前面临的一大难题。笔者结合检案经验，认为可从下述方面进行尝试。

（1）选择合适的扩增试剂盒，如本案中使用的Globalfiler试剂盒。Globalfiler试剂盒是美国ABI公司生产的一种六色荧光标记的扩增试剂盒，灵敏度高，非常适合微量检材的检验。

（2）采用分区检验的方法。即针对混合检材时，合理地将检材分为多个部位，分别检验，可大大降低检出混合DNA的概率。

（3）注重缝隙、沟槽等隐秘部位的检验。每个抓握工具的人员均会将自己的DNA遗留在工具表面，致使工具表面容易检出混合DNA，无利用价值。而工具上的缝隙、沟槽等隐秘部位，因不能与使用者皮肤直接接触，每次仅有极少量的脱落细胞间接掉落、吸附于此，难以大量存留。只有长期、多次使用该工具的人，脱落细胞才会在此积聚并逐渐增多。本案中，折叠刀表面虽进行分区检验，但因犯罪嫌疑人、民警、店主、居民多人触摸，最终只是检出多人混合DNA；而在刀柄与刀刃对合处缝隙内却检出两名男性混合DNA，说明该刀有两名男性多次使用过，短期内接触过该刀的民警、店主、居民脱落细胞量少，可以忽略不计。

（4）对不具有证据价值的混合DNA应加以重视。有些检材检出混合DNA，虽无证据价值，但只要合理利用，仍可以给案件提供重要线索。本案中，刀柄与刀刃对合处缝隙内的混合DNA，虽然存在轻微随机扩增及两混合男性DNA来源不明等问题，不能出具鉴定书，但却给破案提供了重大线索。

两种不同来源的工具类检材 DNA 检验方法的比较

熊克扬 王 炎 张丰收

（江西省九江市公安局刑侦支队，332000）

1 简要案情

案例 1 2017 年 3 月 30 日，在某市一起入室盗窃案现场提取螺丝刀一把（犯罪嫌疑人物品，被受害人触摸）。

案例 2 2017 年 3 月 30 日，在某市一起入室盗窃案现场提取菜刀一把（受害人家中物品，被犯罪嫌疑人持握）。

2 检材提取

案例 1：分区检验，将螺丝刀手柄表面凸起或平整部位分为三部分，手柄上凹槽、缝隙等皮肤不易接触部位分为三部分，金属杆为一部分，共七部分。分别用棉签二步擦拭提取，依次标记为 1~7 号检材。

案例 2：分区检验，将菜刀分为刀片部位，刀柄上段、中段、下段四部分，其中，刀片部分用棉签两步转移，刀柄三部分分别用 1 根微湿润棉签轻轻擦拭表面凸起或平整部位，依次标记为 1~4 号检材。

3 DNA 检验

按 GA/T 383—2014 中硅珠法提取 DNA，使用 Globalfiler 试剂盒在 ABI9700 扩增仪上复合扩增，扩增产物用 3500XL 型分析仪电泳，GeneMapper ID-X 分析，得到 STR 分型。

4 结果

案例 1：在螺丝刀手柄上凹槽、缝隙部分检出一男性 DNA（见图 1），其余部分均为多人混合 DNA。经快比平台比中吴某。

案例 2：在刀柄上段检出一男性 DNA（见图 2），下段检出另一男性 DNA（见图 3），其余部位均为混合 DNA。经快比平台比对，刀柄上段男性 DNA 比中吴某，刀柄下段男性 DNA 未比中。

5 讨论

工具检材是当前 DNA 检案中的一大难题，常因接触人员多，吸附细胞能力弱等原因，检出率较低或检出混合 DNA，无证据和线索作用。

工具形状大多不规则和平整，表面有沟槽、缝隙。使用工具时，人体皮肤只能接触到表面凸起或平整部位，难以接触到这些沟槽、缝隙，致使每个使用工具的人均将自己的细胞大量遗留在表面凸起或平整部位，而在沟槽、缝隙等部位则仅有极少量细胞间接掉落、吸附于此，难以大量存留，只有长期、多次使用该工具的人，细胞才会在此大量积聚。随着使用人员和使用次数的增多，结合每人使用习惯不一，工具表面细胞越积越多，且不同人员的脱落细胞在工具上的分布呈现出数量和区域上的巨大差异。据此，可以将工具分为两类，即犯罪嫌疑人的工具和被犯罪嫌疑人接触的受害人的工具。两类工具表面的细胞分布不同，检验方法也不同。

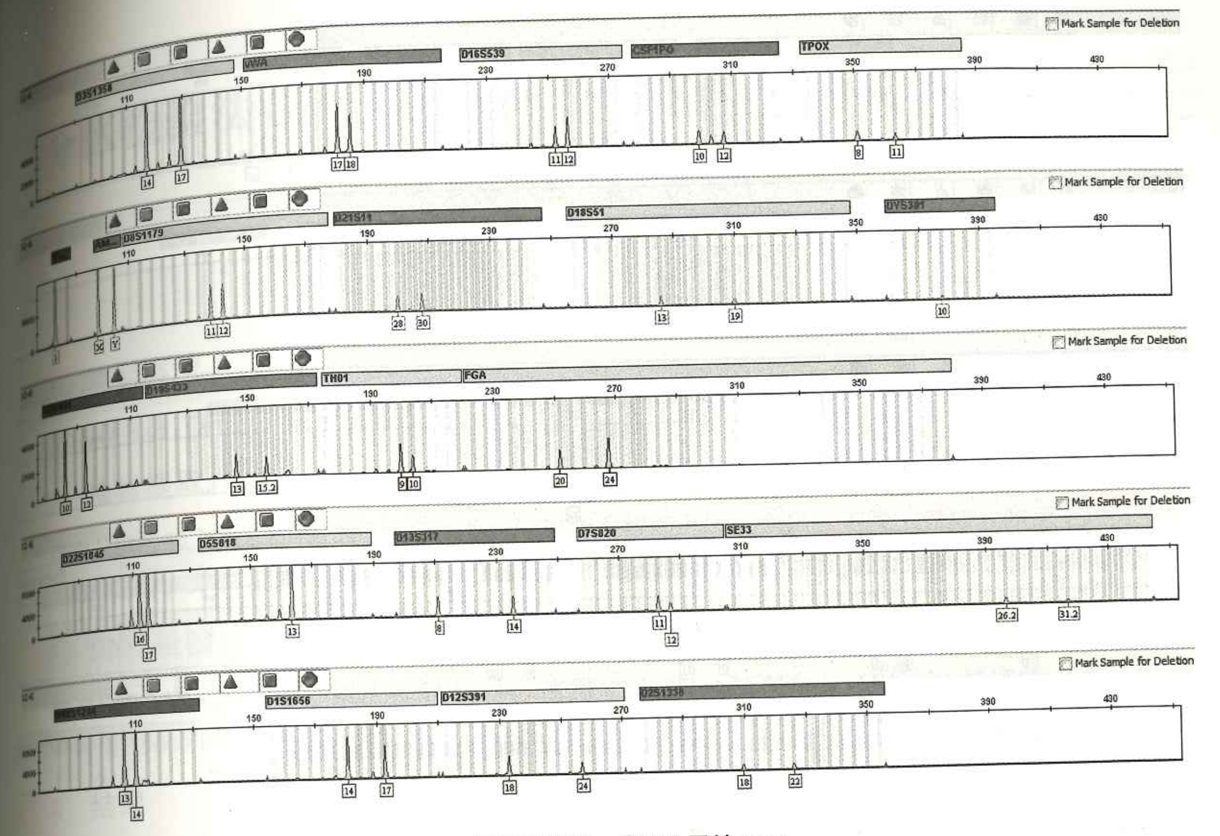


图 1 螺丝刀凹槽、缝隙上男性 DNA

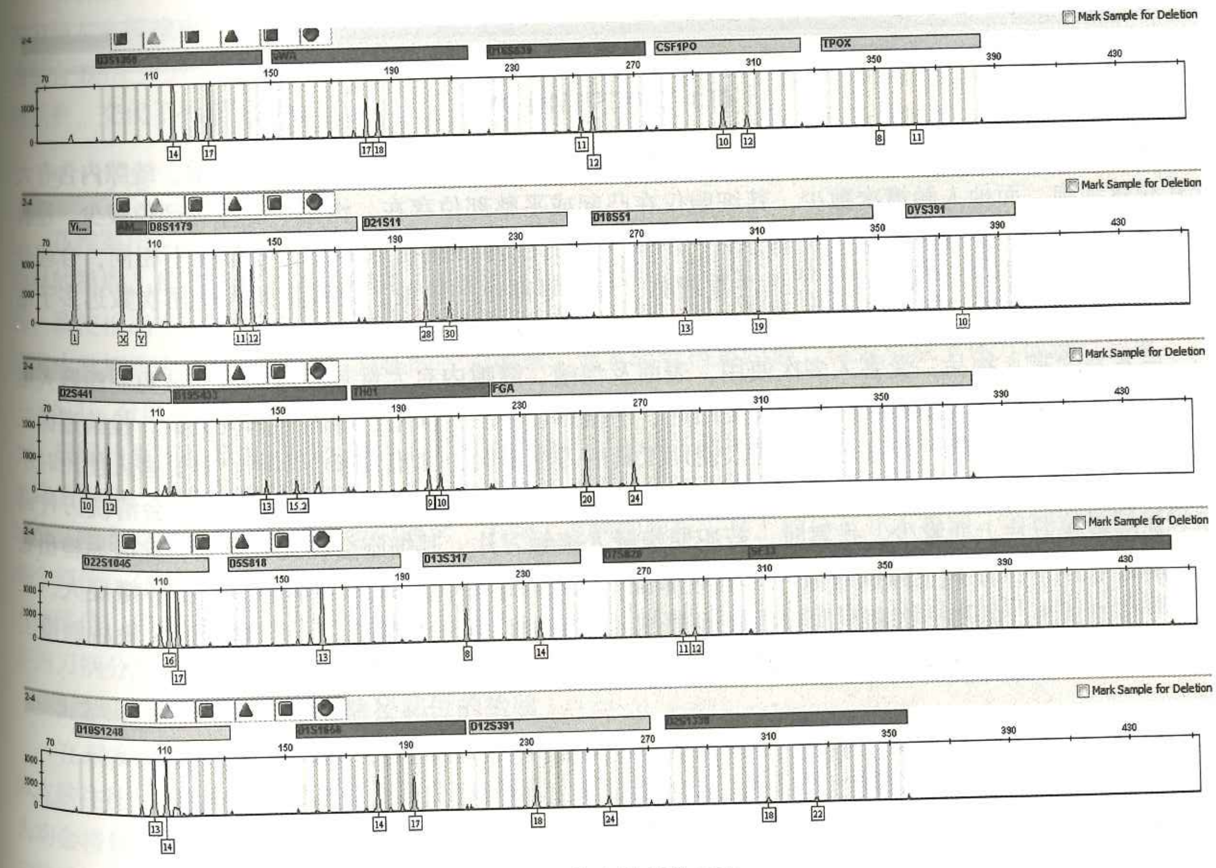


图 2 刀柄上段男性 DNA

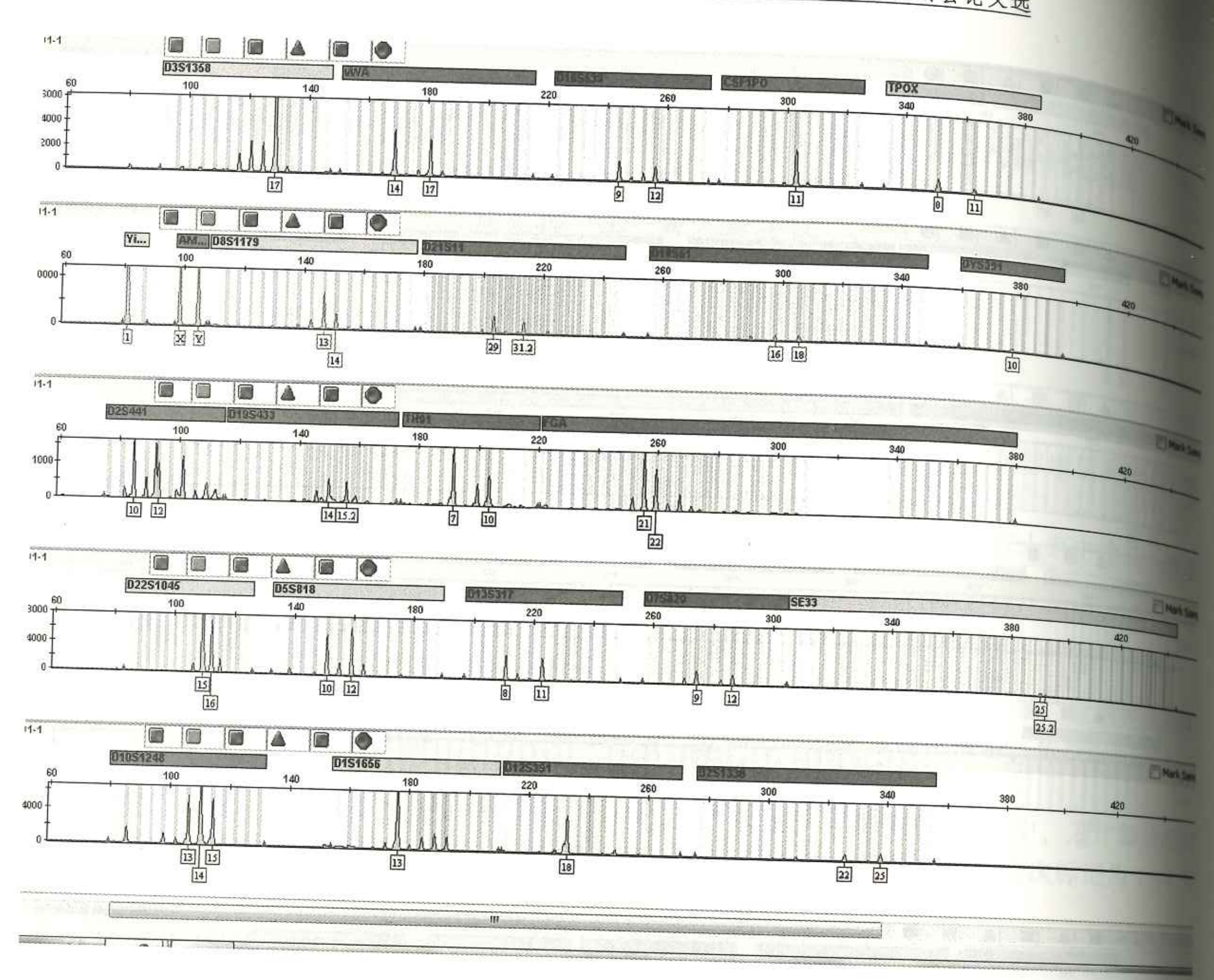


图 3 刀柄下段男性 DNA

前者系犯罪嫌疑人物品，犯罪嫌疑人在生活或作案中多次使用，工具表面及沟槽、缝隙内含有大量其脱落细胞，而他人触摸次数少，其细胞仅在凸起或平整部位存在，沟槽、缝隙等部位极少。检验遵循两个原则。一是分区检验，合理分区。不同人员的脱落细胞在工具上的分布亦不相同，合理分区，可降低检出混合 DNA 概率。二是注重缝隙、沟槽等部位的检验。犯罪嫌疑人使用次数远多于他人，在缝隙、沟槽等部位，嫌疑人细胞也远多于他人，此处易检出犯罪嫌疑人 DNA。

后者系受害人物品，受害人多次使用，表面及沟槽、缝隙内有大量其脱落细胞，被犯罪嫌疑人短暂接触后，犯罪嫌疑人细胞仅在工具表面凸起、平整部位存在，沟槽、缝隙等部位极少。检验遵循三个原则。一是分区检验，合理分区。各人使用工具的习惯不同，细胞分布也不同。对受害人使用时不常接触部位重点做，如案二中菜刀刀片是生活中较少接触的部位，且受害人使用后常会清洗刀片部位，其细胞在刀片上非常少。作案时，若犯罪嫌疑人接触刀片，其细胞会在此处遗留，此时易检出犯罪嫌疑人 DNA。二是避免擦拭缝隙、沟槽等部位。受害人细胞在此处的含量远多于犯罪嫌疑人。三是用一步擦拭法。即用一根微湿润棉签轻轻擦拭工具表面凸起或平整部位。犯罪嫌疑人最后触摸工具，其细胞仅分布在最表层，一步擦拭就可避免转移出大量的下层受害人细胞。

分区检验法在工具类检材 DNA 检验中的成功应用一例

熊克扬　王　炎　张丰收

（江西省九江市公安局刑侦支队，332000）

1 简要案情

2016 年 8 月 7 日，舒某在楼道内被人持刀抢劫，现场提取犯罪嫌疑人遗弃的折叠刀一把送检。

2 检材提取

采取分区检验方案，即将该折叠刀表面分为刀柄左侧面上段、中段、下段，刀柄右侧面上段、中段、下段，刀片部分，刀柄与刀刃对合处缝隙共 8 部分，分别用棉签二步擦拭提取，依次标记为 1~8 号检材。

3 DNA 检验

按 GA/T 383—2014 中硅珠法提取 DNA，使用 Globalfiler 试剂盒在 ABI9700 扩增仪上复合扩增，扩增产物用 3500XL 型分析仪电泳，GeneMapper ID-X 软件分析，得到 STR 分型。

4 结果

从折叠刀上共检出三名男性 DNA 分型，且均为单一男性 DNA。其中在刀片上检出一男性 DNA，在刀柄左上段检出另一男性 DNA，在刀柄与刀片对合处的缝隙内检出第三名男性 DNA，其余部分均为混合 DNA 分型。经快比平台比对，三名男性 DNA 分别比中潘某良、陈某平、潘某新三人。后三人被抓获，交代了抢劫犯罪事实。

5 讨论

在检案中，工具是常见的一大类检材，它是证明犯罪嫌疑人犯罪最直接、最有效的证据，故工具检材的提取、检验非常重要。但此类检材常因犯罪嫌疑人戴手套，接触人员多，吸附细胞能力弱等原因，致使检出率一直都不高，即使检出也常为混合分型，无证据和线索作用。如何让此类检材在侦查破案中发挥重要作用，是当前面临的一大难题。笔者结合检案经验，认为可从下述方面进行尝试。

5.1 分区检验，合理分区

根据物质交换原理，每次使用工具的人均会将自己的脱落细胞遗留在工具表面。受使用习惯和使用次数的影响，每个人遗留在工具上的脱落细胞并非均匀分布于工具表面，其细胞在有的区域多，有的区域少。随着使用人员和使用次数的增多，不同人员的细胞在工具上的分布亦不相同。合理地将检材分为多个部位，分别检验，可大大降低检出混合 DNA 的概率。在本案中，每个使用该折叠刀的人均会触摸刀柄部位，但并非每个人都会接触刀片部位，故技术人员将刀片部分作为一个独立分区，而将接触人员多的刀柄分为多个分区，并成功从刀片和刀柄上分别检出一男性 DNA。

5.2 注重缝隙、沟槽等隐秘部位的检验

在现实生活中，工具形状大多不是规则和平整的，而是在表面有大量沟槽、缝隙。在使用工具时，人体皮肤往往只能接触到工具表面凸起或平整部位，难以接触到这些沟槽、缝隙。这就致使每个使用工具的人均会将自己的细胞大量黏附在工具表面凸起或平整部位，该部位易检测出混合 DNA。而在沟槽、缝隙等皮肤难以接触的部位则仅有极少量细胞间接掉落、吸附于此，难以大量存留，只有长期、多次使用该工具